

PCT/JP 03/13579

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

23.10.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2002年11月 8日

出 願 番 号
Application Number: 特願2002-326190
[ST. 10/C]: [JP2002-326190]

RECEIVED	
12 DEC 2003	
WIPO	PCT

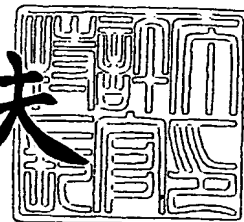
出 願 人
Applicant(s): 株式会社リプロセル

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年11月28日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 J102519517
【提出日】 平成14年11月 8日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 A61P

【発明者】
【住所又は居所】 東京都港区白金台 4 - 6 - 1
【氏名】 中内 啓光

【発明者】
【住所又は居所】 東京都港区白金台 4 - 6 - 1
【氏名】 岩間 厚志

【特許出願人】
【識別番号】 302044546
【氏名又は名称】 株式会社トランスサイエンス

【代理人】
【識別番号】 100078282
【弁理士】
【氏名又は名称】 山本 秀策

【選任した代理人】
【識別番号】 100062409
【弁理士】
【氏名又は名称】 安村 高明

【選任した代理人】
【識別番号】 100113413
【弁理士】
【氏名又は名称】 森下 夏樹

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 001878
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0210954

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 幹細胞の増幅因子

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物であって、活性型 STAT5 を含む、組成物。

【請求項 2】 前記幹細胞は、造血幹細胞である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】 前記活性型 STAT5 は、活性型 STAT5A または STAT5B である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】 前記活性型 STAT5 は、活性型 STAT5A である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】 前記活性型 STAT5 は、

(a) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、

であって、少なくとも 1 つのセリン残基、スレオニン残基またはチロシン残基がリン酸化されている、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】 前記活性型 STAT5 は、

(a) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメ

ントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、

のホモ二量体またはヘテロ二量体を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】 前記活性型 STAT5 は、配列番号 2 における 694 番目のチロシン残基またはそれに対応するチロシン残基が少なくともリン酸化されている、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】 前記活性型 STAT5 は、二量体である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 9】 前記活性型 STAT5 は、配列番号 2 または 6 における 298 番目のヒスチジン残基および／または 710 番目のセリン残基またはそれに対応する残基がそれぞれアルギニンおよび／またはフェニルアラニンに置換されている、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】 前記活性型 STAT5 は、配列番号 10 に示す配列を有する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 11】 前記活性型 STAT5 は、恒常的または一過的に活性である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 12】 さらに細胞生理活性物質を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 13】 前記細胞生理活性物質は、SCF、TPO および Flt-3L からなる群より選択される、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 14】 前記細胞生理活性物質は、SCF、TPO および Flt-3L を含む、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 15】 薬学的に受容可能なキャリアを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 16】 幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物であって、STAT5 および該 STAT5 の活性化因子を含む、組成物。

【請求項 17】 前記活性型 STAT5 は、

(a) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列を有する、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】 前記活性化因子は、JAK ファミリーから選択されるメンバーまたはその改変体である、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 19】 活性型 STAT5 をコードする核酸分子を含む、幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物。

【請求項 20】 前記活性型 STAT5 をコードする核酸分子は、二量体を形成する STAT5 をコードする核酸配列を含む、組成物。

【請求項 21】 前記活性型 STAT5 をコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載の塩基配列からなる DNA の対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 22】 前記核酸分子は、ベクターに含まれる、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 23】 前記核酸分子は、レトロウイルスベクターに含まれる、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 24】 前記核酸分子は、配列番号 9 に示す配列を有する、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 25】 幹細胞の増幅 (expansion) のための組成物であって、STAT5 をコードする核酸分子および該 STAT5 を活性化する因子を含む、組成物。

【請求項 26】 前記 STAT5 をコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド;

(c) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド;

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載の塩基配列からなる DNA の対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド;

(e) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド;

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド; または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70% である塩基配列からなり、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 27】 前記核酸分子は、ベクターに含まれる、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 28】 前記核酸分子は、レトロウイルスベクターに含まれる、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 29】 前記活性化する因子は、JAK ファミリーから選択されるメンバーまたはその改変体である、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 30】 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための方法であって、

A) 幹細胞を提供する工程; および

B) 該幹細胞に、活性型 STAT5 を提供する工程、
を包含する、方法。

【請求項 31】 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持

するための方法であって、

A) 幹細胞を提供する工程；

B) 該幹細胞に、STAT5を提供する工程；および

C) 該STAT5を活性化する工程、

を包含する、方法。

【請求項32】 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、活性型STAT5の使用。

【請求項33】 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、STAT5の使用。

【請求項34】 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、STAT5および該STAT5の活性化因子の使用。

【請求項35】 請求項30または31に記載の方法によって得られた細胞。

【請求項36】 請求項30または31に記載の方法によって得られた細胞から得られた組織。

【請求項37】 請求項30または31に記載の方法によって得られた細胞から得られた臓器。

【請求項38】 請求項30または31に記載の方法によって得られた細胞を含む、医薬組成物。

【請求項39】 幹細胞またはそれに由来する分化細胞を必要とする疾患または障害を処置または予防するための方法であって、

A) 請求項30または31に記載の方法によって得られた細胞をそのような処置または予防を必要とする被検体に投与する工程、
を包含する、方法。

【請求項40】 請求項30または31に記載の方法によって得られた細胞の、幹細胞またはそれに由来する分化細胞を必要とする疾患または障害を処置または予防するための使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、幹細胞の増幅（*expansion*）またはその多能性（もしくは未分化性）もしくは自己複製能を維持するための組成物、方法およびキットに関する。より詳細には、本発明は、活性型STAT5を使用した幹細胞の増幅（*expansion*）またはその多能性（もしくは未分化性）もしくは自己複製能を維持するための組成物、方法およびキットに関する。本発明はまた、そのような方法を用いて調製された幹細胞（特に、造血幹細胞）にも関する。

【0002】**【従来の技術】**

再生医学（再生医療）による疾患治療が最近注目を浴びている。しかし、これを臓器ないし組織機能不全を呈する多くの患者に対して日常的に適応するまでには至っていない。現在まで、そのような患者の治療として、臓器移植のほか、医療機器での補助システムの利用がごく限られた患者に適応されているにすぎない。しかし、これらの治療法には、ドナー不足、拒絶、感染、耐用年数などの問題がある。特に、ドナー不足は深刻な問題であり、骨髄移植の場合、国内外で骨髄ないし臍帯血バンクが次第に充実してきたといっても、限られたサンプルを多くの患者に提供することが困難である。従って、これらの問題を克服するために幹細胞治療とその応用を中心とした再生医学に対する期待がますます高まっている。

【0003】

生物の体は一生の間に外傷や病気によって臓器の一部を失ったり、大きな傷害を受けたりする。その場合、損傷した臓器が再生できるか否かは、臓器によって（または動物種によって）異なる。自然には再生できない臓器（または組織）を再生させ、機能を回復させようというのが再生医学である。組織が再生したかどうかは、その機能が改善したかにどうかによって判定することができる。哺乳動物は、組織・器官（臓器）を再生する力をある程度備えている（例えば、皮膚、肝臓および血液の再生）。しかし、心臓、肺、脳などの臓器は再生能力に乏しく、一旦損傷すると、その機能を再生させることができないと考えられてきた。従って、従来であれば、例えば、臓器が損傷した場合、臓器移植による処置しかほ

とんど有効な措置がなかった。

再生能力の高い臓器には幹細胞が存在することが古くから想定されていた。この概念が正しいことは動物モデルを用いた実験的骨髄移植によって証明された。そして、その後の研究によって骨髄中の幹細胞がすべての血液細胞再生の源であることが明らかにされた。幹細胞は骨髄、皮膚等の再生能力の高い臓器に存在することも明らかにされた。さらに、再生されないと長年思われてきた脳にも、幹細胞が存在することが明らかとなってきた。すなわち、体内のあらゆる臓器には幹細胞が存在し、多かれ少なかれ、各臓器の再生を司っていることがわかってきた。また、各組織に存在する幹細胞には予想以上に可塑性があり、ある臓器中の幹細胞は他の臓器の再生にも利用できる可能性が指摘されている。

【0004】

幹細胞は今まで不可能であった臓器の再生にも利用できる可能性がある。幹細胞治療を中心として、再生医学はその注目度を増している。近年、医学・医療分野から再生に関する研究の必要性が高まるにつれて、幹細胞または器官形成に関する知見が毎年、増大している。例えば、全能性を有する胚性幹細胞（ES細胞）の樹立と成体体細胞からのクローン個体の作製が特に注目されている。幹細胞治療に発生・再生に関する技術を利用できるからで、幹細胞を用いた再生医学は各分野で臨床応用を目的とした、準備段階にはいつている。また、すでに実用化がすすんでいる分野もある。

【0005】

再生医学においては、器官・臓器の再構築が最重要となる。この場合、大きく分けて生体外で器官を構築し人工器官として用いる方法と、生体内で器官を再構築させる方法とがある。いずれの場合でも、器官の構築には幹細胞が必要となる。ここで用いられる幹細胞にとって重要な性質としては、多能性および自己複製能がある。

【0006】

幹細胞には大きく分けて、胚性幹細胞と体性（組織）幹細胞とが存在する。体性幹細胞の中でも古くから注目されていたものとして、造血幹細胞がある。寿命の短い成熟血球をヒトの一生の間維持するためには、造血幹細胞の自己複製能と

多分化能とが必要であり、このことは、1961年にすでに提唱されていた (Till, J. E., et al., Radiat. Res. 14:213-222)。1972年にマウスモデルを用いた骨髓移植法が確立され (Micklem, H. S. et al.: J. Cell Physiol., 79:293-298, 1972)、造血系再構築を調べることにより造血幹細胞を検出することができるようになって以来、造血幹細胞の研究は飛躍的に進展した。その後の研究により、自己複製能と多分化能との両方を有する造血幹細胞の存在が示された (Dick, J. E., et al.; Cell 42:71-79, 1985)。しかし、造血幹細胞は、マウスの場合でも10万個の骨髓細胞中に数個程度という低い頻度で存在することから、実際の研究または臨床応用する場合には、濃縮・純化する必要がある。

【0007】

従来から造血幹細胞移植治療は行われていたが、天然の細胞を濃縮したものを使用していたことから、種々の副作用があった。例えば、大量抗癌剤または放射線照射を用いた移植前処置による副作用 (RRT) が存在していた。また、前処置による骨髓抑制中の細菌・真菌感染症、出血；他人からの移植の場合、ドナーの白血球が生着して増えてきた時に患者臓器を異物 (他人) とみなして攻撃する反応 (移植片対宿主病=GVD)；サイトメガロウィルス (CMV) 肺炎を中心とする様々な肺合併症；血管内皮細胞 (血管の内側を覆っている細胞) の障害による種々の内臓障害；生着後にも遷延する免疫抑制状態 (少なくとも1～2年) の間に罹患する様々な感染症；遷延し様々な症状を呈する慢性GVD；二次性発癌、性腺機能障害、不妊などの晩期障害などの副作用があった。

【0008】

以上のような合併症のために、移植を行ったがために、かえって一時的に全身状態が悪くなるということはしばしば起こる。また、合併症のために死亡する患者も、自家移植でも10～20%、他人からの移植では20～40%程度認められる。また、これらの合併症を乗り越えても、もとの病気が再発する可能性があり、現在の移植治療の限界があった。

【0009】

骨髓移植後の合併症による早期死亡を予防することを目的に幹細胞を分離・純化し、生体外で幹細胞から前駆細胞を大量に産生し、それを幹細胞とともに移植することによって行う治療法が登場し、すでに臨床試験が試みられようとしている。

【0010】

FACS (fluorescence activated cell sorter) が1980年代に提唱されて以来、FACSを使用した方法が造血幹細胞の濃縮・純化に多用されている。多重染色した骨髓細胞からCD34-KSL細胞を分離することによって純度の高い造血幹細胞が得られることが明らかになっている (Osawa, M. et al., Science, 273:242-245, 1996)。上述のように、多分化能および自己複製能は幹細胞の本質である。その能力を十二分に引き出すためには幹細胞を濃縮・純化し、それを体外培養によって増幅することが重要となる。

幹細胞の分化を調節する機構として種々のタンパク質が重要な役割を果たす。例えば、幹細胞因子 (stem cell factorまたはsteel factor; SCFともいう) は、造血幹細胞では注目されている因子である。

【0011】

SCFは、骨髓ストローマ細胞により生成され、多能性幹細胞、CFU-GMのCFU-M、CFU-Megなどの骨髓系細胞、リンパ系幹細胞に作用し、これらの分化を支持する。すなわち造血幹細胞から分化細胞へのほぼすべての系統の分化段階の細胞に作用して、他のサイトカインによる最終分化段階への分化誘導する作用を助けるとされる (北村聖 (S. Kitamura)、サイトカインの最前線、羊土社、平野俊夫 (T. Hirano) 編、174頁～187頁、2000)。

【0012】

しかし、SCF単独の作用は弱く、他の因子と協働でなければ十分に機能しないようである。例えば、SCFは、インターロイキン (IL) -3、IL-6、IL-11、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) などの他のサイトカインの存在下で、造血幹細胞の分化・増殖を強く誘導する。また、肥満細胞、赤芽球系

前駆細胞、顆粒球マクロファージ系前駆細胞、巨核球系前駆細胞などの分化・増殖も誘導する。

【0013】

従って、SCFは分化そのものを制御するというよりは、多くの種類の造血系細胞の生存を支持しながら、種々のサイトカインに対する反応性を高めると位置づけることができる。

【0014】

トロンボポイエチン (TPO) もまた注目されている。この因子は、巨核球系の分化と血小板産生を支持するが、幹細胞にも作用しその分化を誘導する。また、幹細胞の自己複製にも関与することが分かっている。

【0015】

このように、従来の因子では、幹細胞の分化を促進することはなしえても、未分化のままその多能性を維持することができないという問題点があった。

【0016】

造血幹細胞の未分化性の維持および自己複製に、トロンボポイエチン受容体および gp130 を介したシグナルが有効であることが報告されている。このシグナルの下流には、JAK-S t a t 系などの種々の因子が存在することが知られているが、どの因子が実際に未分化性の維持および／または自己複製において役割を果たしているかについては、解明が進んでいない。

【0017】

【非特許文献1】

I n t . J . o f H e m a t o l o g y 72:271-277 (2001)

【非特許文献2】

N a t u r e R e v i e w s 3:851-858 (2002. Sept)

【非特許文献3】

C e l l 109, S121-S131 (2002, April)

【非特許文献4】

B l o o d 99, 479-487 (2002, Jan)

【非特許文献5】

Blood 99、95-99 (2002, Jan)

【非特許文献6】

EMBO J. 18:4754-4765 (1999)

【非特許文献7】

Mol. Cell. Biol. 38:3871-3879 (1998)

【0018】

【発明が解決しようとする課題】

従って、本発明は、造血幹細胞のような幹細胞を増幅 (expansion) させ、あるいは、多能性を維持し、および／または自己複製能も保持させる方法および物質を提供することを課題とする。

【0019】

【課題を解決するための手段】

上記課題は、一部、本発明者らが、活性型 STAT5 自体が予想外に、造血幹細胞のような幹細胞を未分化のまま、多能性を維持し、かつ、自己複製能も保持させる機能を有することを発見したことによって、解決された。

【0020】

従って、本発明は、以下を提供する。

【0021】

(1) 幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物であって、活性型 STAT5 を含む、組成物。

【0022】

(2) 前記幹細胞は、造血幹細胞である、項目1に記載の組成物。

【0023】

(3) 前記活性型 STAT5 は、活性型 STAT5 A または STAT5 B である、項目1に記載の組成物。

【0024】

(4) 前記活性型 STAT5 は、活性型 STAT5 A である、項目1に記載の組成物。

【0025】

(5) 前記活性型 S T A T 5 は、

(a) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、

であって、少なくとも 1 つのセリン残基、スレオニン残基またはチロシン残基がリン酸化されている、項目 1 に記載の組成物。

【0026】

(6) 前記活性型 S T A T 5 は、

(a) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペ

チド、

のホモ二量体またはヘテロ二量体を含む、項目 1 に記載の組成物。

【0027】

(7) 前記活性型 STAT5 は、配列番号 2 における 694 番目のチロシン残基またはそれに対応するチロシン残基が少なくともリン酸化されている、項目 1 に記載の組成物。

【0028】

(8) 前記活性型 STAT5 は、二量体である、項目 1 に記載の組成物。

【0029】

(9) 前記活性型 STAT5 は、配列番号 2 または 6 における 298 番目のヒスチジン残基および／または 710 番目のセリン残基またはそれに対応する残基がそれぞれアルギニンおよび／またはフェニルアラニンに置換されている、項目 1 に記載の組成物。

【0030】

(10) 前記活性型 STAT5 は、配列番号 10 に示す配列を有する、項目 1 に記載の組成物。

【0031】

(11) 前記活性型 STAT5 は、恒常的にまたは一過的に活性である、項目 1 に記載の組成物。

【0032】

(12) さらに細胞生理活性物質を含む、項目 1 に記載の組成物。

【0033】

(13) 前記細胞生理活性物質は、SCF、TPO および Flt-3L からなる群より選択される、項目 11 に記載の組成物。

【0034】

(14) 前記細胞生理活性物質は、SCF、TPO および Flt-3L を含む、項目 11 に記載の組成物。

【0035】

(15) 薬学的に受容可能なキャリアを含む、項目 1 に記載の組成物。

【0036】

(16) 幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物であって、STAT5および該STAT5の活性化因子を含む、組成物。

【0037】

(17) 前記活性型STAT5は、

(a) 配列番号2、4、6または8に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号2、4、6または8に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号1、3、5または7に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号2、4、6または8に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか1つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列を有する、項目16に記載の組成物。

【0038】

(18) 前記活性化因子は、JAKファミリーから選択されるメンバーまたはその改変体である、項目16に記載の組成物。

【0039】

(19) 活性型STAT5をコードする核酸分子を含む、幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物。

【0040】

(20) 前記活性型STAT5をコードする核酸分子は、二量体を形成するSTAT5をコードする核酸配列を含む、組成物。

【0041】

(21) 前記活性型STAT5をコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載の塩基配列からなる DNA の対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む、項目 19 に記載の組成物。

【0042】

(22) 前記核酸分子は、ベクターに含まれる、項目 18 に記載の組成物。

【0043】

(23) 前記核酸分子は、レトロウイルスベクターに含まれる、項目 19 に記載の組成物。

【0044】

(24) 前記核酸分子は、配列番号 9 に示す配列を有する、項目 19 に記載の組成物。

【0045】

(25) 幹細胞の増幅 (expansion) のための組成物であって、S

T A T 5 をコードする核酸分子および該 S T A T 5 を活性化する因子を含む、組成物。

【0046】

(26) 前記 S T A T 5 をコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載の塩基配列からなる D N A の対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む、項目 25 に記載の組成物。

【0047】

(27) 前記核酸分子は、ベクターに含まれる、項目 25 に記載の組成物。

【0048】

(28) 前記核酸分子は、レトロウイルスベクターに含まれる、項目 25 に記載の組成物。

【0049】

(29) 前記活性化する因子は、JAKファミリーから選択されるメンバーまたはその改変体である、項目25に記載の組成物。

【0050】

(30) 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための方法であって、

A) 幹細胞を提供する工程；および

B) 該幹細胞に、活性型STAT5を提供する工程、
を包含する、方法。

【0051】

(31) 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための方法であって、

A) 幹細胞を提供する工程；

B) 該幹細胞に、STAT5を提供する工程；および

C) 該STAT5を活性化する工程、
を包含する、方法。

【0052】

(32) 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、活性型STAT5の使用。

【0053】

(33) 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、STAT5の使用。

【0054】

(34) 幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、STAT5および該STAT5の活性化因子の使用。

【0055】

(35) 項目30または31に記載の方法によって得られた細胞。

【0056】

(36) 項目30または31に記載の方法によって得られた細胞から得られた組織。

【0057】

(37) 項目30または31に記載の方法によって得られた細胞から得られた臓器。

【0058】

(38) 項目30または31に記載の方法によって得られた細胞を含む、医薬組成物。

【0059】

(39) 幹細胞またはそれに由来する分化細胞を必要とする疾患または障害を処置または予防するための方法であって、

A) 項目30または31に記載の方法によって得られた細胞をそのような処置または予防を必要とする被検体に投与する工程、
を包含する、方法。

【0060】

(40) 項目30または31に記載の方法によって得られた細胞の、幹細胞またはそれに由来する分化細胞を必要とする疾患または障害を処置または予防するための使用。

【0061】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。

【0062】

以下に本明細書において特に使用される用語の定義を列举する。

【0063】

本明細書において「STAT5」(signal transducer and activator of transcription 5)とは、配列番号1、3、5および7(核酸配列)および2、4、6および8(アミノ酸配列)に示されるような配列を有する因子および他の種の動物において対応する因子

(オルソログ)をいう。STAT5は、核移行能および特異的な配列へのDNA結合、さらには転写因子活性という活性を有することによって同定することができる。STAT5は、分子内に、特異的リン酸化構造を認識するSH2 (src homology 2) ドメインを有する。STAT5は、セリン残基、スレオニン残基またはチロシン残基がリン酸化されると、二量体化されホモ二量体 (homodimer) を形成し、核内へ移行し、特異的DNA配列を認識して結合し、多くの遺伝子の転写を制御していることが知られている。STAT5では、特に、配列番号2または6では694位のチロシンがリン酸化されることが重要なようである。本明細書において、そのようにSTAT5が特異的に認識して結合する部位は、「STAT5 コンセンサス配列」と呼ぶ。そのような配列は、5'-GATCCGAATTCCAGGAATTCAGATC-3' (配列番号11) という共通配列を有する。

【0064】

STAT5は、ヒト、ラットおよびマウスなどを含む哺乳動物のほか、ショウジョウバエなどでもそのホモログが知られている。従って、本明細書においてSTAT5は、通常、哺乳動物のほか、生物一般において存在するSTAT5を指す。

【0065】

STAT5には、哺乳動物などではSTAT5AおよびSTAT5Bという非常に類似した分子が存在することが知られる。本発明では、STAT5AおよびSTAT5Bが存在する場合、どちらの分子でも同様の作用を有することが企図される。ある好ましい実施形態では、STAT5Aが使用され得る。

【0066】

本明細書において「活性型STAT5」とは、STAT5が活性化されてできた分子をいい、核内への移行能を有し、かつ、STAT5 コンセンサス配列に結合する能力を有する分子をいう。そのような活性型STAT5は、少なくとも1つのセリン、スレオニンまたはチロシン残基がリン酸化されていることが特徴である。そのような活性型STAT5は、代表的には、SH2ドメイン外にあるチロシン残基がリン酸化され、二量体化したものをいう。そのようなチロシン残基

は、例えば、配列番号 2 または 6 では、694 番目のチロシン残基が挙げられるがそれに限定されない。

【0067】

そのような活性型 STAT5 は、人工的に作製したり、合成により作製することもできる。そのような人工的に作製された STAT5 としては、恒常的に二量体化するように変異が導入された STAT5 が挙げられる。そのような恒常的に二量体化する STAT5、すなわち恒常性の活性型 STAT5 としては、例えば、配列番号 10 に示される配列を有する分子が挙げられるがそれに限定されない。別の実施形態では、活性型 STAT5 は、低分子化合物であり得る。当業者であれば、容易にそのような低分子化合物をスクリーニングすることができる。そのようなスクリーニングは、本明細書において記載される活性型 STAT5 の活性を測定するアッセイを用いることにより行うことができる。

【0068】

本明細書において、活性型 STAT5 は、天然に存在する活性型 STAT5（例えば、リン酸化され二量体化した STAT5A）が有する機能を有する限り、どのような分子でもよい。ある因子が活性型 STAT5 であるかどうかは、その因子が細胞の核内に入る能力を有することおよび／または STAT5 コンセンサス配列に結合する能力を有することを判定することによって、判断することができる。具体的には、核移行はその因子が核酸分子である場合、STAT5 遺伝子を細胞にトランスフェクトし、抗 STAT5 抗体を用いて免疫染色し、核への局在を確認することで判定することができる。そのような因子がタンパク質などの場合は、直接細胞内に導入し、その後、核内にそのような因子が移行するかどうかを、その因子に特異的な抗体を用いて免疫染色することによって確かめることができる。そのような技術は、当該分野において周知である。

【0069】

STAT5 コンセンサス配列に結合する能力を判断するために、STAT5 結合塩基配列として用いられているプロラクチン応答性エレメント (PRE) を含む塩基配列 (5' -GATCCGAATTCCAGGAATTCAGATC-3') (配列番号 11) を含む 2 本鎖オリゴヌクレオチドを用いたゲルシフトアッ

セイで調べる。ある因子（核酸の場合）をトランスフェクトした細胞の核抽出液または因子そのもの（タンパク質など直接作用する場合）と、この塩基配列を含む核酸分子とを反応させ、ポリアクリルアミドゲルで電気泳動および分離後、その因子または因子の遺伝子産物と、コンセンサス配列を含む核酸分子との複合体の形成を同定することによって判定することができる。通常は、複合体の形成が有意に確認することができれば、その因子は、活性型 S T A T 5 と同一の機能を有すると判断することができる。

【0070】

転写活性化は上記同様 P R E 配列を含むウシの β カゼインプロモーターを用いて行う。 β カゼインプロモーター下流にルシフェラーゼ遺伝子をつないだものをレポーター遺伝子とし、細胞にレポーター遺伝子および S T A T 5 遺伝子を同時にトランスフェクトし、ルシフェラーゼ活性を測定する。あるいは、その因子が直接作用する場合は、細胞にレポーター遺伝子のみをトランスフェクトし、その後因子を作用させてルシフェラーゼ活性を測定することによって、活性型 S T A T 5 であるかどうかを判断することができる。ルシフェラーゼ活性が上がれば転写活性化能があると評価することができる。限定されることを望まないが、そのような評価の際には、統計学的処理を行い、統計学的に有意であるかどうかを判断することができる。

【0071】

活性型 S T A T 5 であるかどうかを判断するには、以上の少なくとも 1 つで有意な活性が判定することができることで十分である。また、基本的にはルシフェラーゼレポーターアッセイで活性が認められれば、核に移行し DNA に結合していることの間接的な証明になることから、簡便にはこれだけ見ることで判定することも可能である。

【0072】

S T A T 5 は、トロンボポイエチンのシグナル伝達系において有意な役割を果たす。S T A T 5 は、造血幹細胞において見出されており、造血幹細胞における役割が企図される。トロンボポイエチンを介して、J A K 2 / S T A T 5 が活性化され、T 細胞・B 細胞等の免疫細胞、造血細胞、肝細胞、神経細胞に対して、

増殖・分化・細胞死の抑制など多種多様なシグナルを細胞内へ伝えることが知られている。従って、本発明では、活性型 S T A T 5 を生成するようなトロンボポイエチンなどのシグナル伝達経路を刺激することによっても、同様の効果を達成することができる。

【0073】

本明細書において「恒常性」の活性型 S T A T 5 とは、特に何も刺激しない場合には、活性型 S T A T 5 の機能を保持するものをいう。これに対し、「一過性」の活性型 S T A T 5 とは、ある一定期間のみ活性型 S T A T 5 の機能を発揮するものをいう。恒常性の活性型 S T A T 5 には、例えば、S T A T 5 A 1 * 6 のように発現されると常に二量体を形成するものが挙げられるがそれに限定されない。そのような恒常性の活性型 S T A T 5 としては、例えば、S T A T 5 A 1 * 6 (配列番号 9 および 10、この配列は配列番号 6 において 298 番目のヒスチジンおよび 710 番目のセリンがそれぞれアルギニンおよびフェニルアラニンに置換されている)、および種相同体における対応する配列が同様の改変体 (例えば、ヒトのものなど) が挙げられるがそれに限定されない。

【0074】

本明細書において、「リガンド」とは、あるタンパク質に特異的に結合する物質をいう。例えば、細胞膜上に存在する種々のレセプタータンパク質分子と特異的に結合するレクチン、抗原、抗体、ホルモン、神経伝達物質などがリガンドとして挙げられる。

【0075】

本発明において用いられる活性型 S T A T 5 について、糖鎖が付加され得る部分としては、N-アセチル-D-グルコサミンなどが結合する N-グルコシド結合可能な部分、および N-アセチル-D-ガラクトサミンの O-グリコシド結合をする部分 (セリンまたはスレオニン残基が頻出する部分) が挙げられる。本明細書において使用される S T A T 5 または活性型 S T A T 5 は、糖鎖の有無は特に活性に影響を与えるというわけではないが、これらの糖鎖が付加されたタンパク質は、通常生体内での分解に対して安定であり、強い生理活性を有し得る。従って、これら糖鎖が付加されたポリペプチドもまた、本発明の範囲内にある。

【0076】

本明細書において使用される用語「タンパク質」「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーをいう。このポリマーは、直鎖であっても分岐していてもよく、環状であってもよい。アミノ酸は、天然のものであっても非天然のものであってもよく、改変されたアミノ酸であってもよい。この用語はまた、複数のポリペプチド鎖の複合体へとアセンブルされ得る。この用語はまた、天然または人工的に改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。そのような改変としては、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは改変（例えば、標識成分との結合体化）などが挙げられる。この定義にはまた、例えば、アミノ酸の1または2以上のアナログを含むポリペプチド（例えば、非天然のアミノ酸などを含む）、ペプチド様化合物（例えば、ペプチド）および当該分野において公知の他の改変が包含される。特に言及する場合、本発明の「ポリペプチド」は、STAT5または活性型STAT5を指すこともある。

【0077】

本明細書において使用される用語「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーをいう。この用語はまた、「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」を含む。「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、またはヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドをいい、互換的に使用される。そのようなオリゴヌクレオチドとして具体的には、例えば、2'-O-メチル-リボヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN3'-P5' ホスホロアミデート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5 プロピニルウラ

シルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5チアゾールウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5プロピニルシトシンで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換された誘導体オリゴヌクレオチド、DNA中のリボースが2'-O-プロピルリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチド中のリボースが2'-メトキシエトキシリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドなどが例示される。他にそうではないと示されなければ、特定の核酸配列はまた、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された改変体（例えば、縮重コドン置換体）および相補配列を包含することが企図される。具体的には、縮重コドン置換体は、1またはそれ以上の選択された（または、すべての）コドンの3番目の位置が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作成することにより達成され得る（Batzeraら、Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991) ; Ohtsukaら、J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985) ; Rossoliniら、Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994) ）。用語「核酸」はまた、本明細書において、遺伝子、cDNA、mRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと互換可能に使用される。特定の核酸配列はまた、「スプライス改変体」を包含する。同様に、核酸によりコードされた特定のタンパク質は、その核酸のスプライス改変体によりコードされる任意のタンパク質を暗黙に包含する。その名が示唆するように「スプライス改変体」は、遺伝子のオルタナティブスプライシングの産物である。転写後、最初の核酸転写物は、異なる（別の）核酸スプライス産物が異なるポリペプチドをコードするようにスプライスされ得る。スプライス改変体の産生機構は変化するが、エキソンのオルタナティブスプライシングを含む。読み越し転写により同じ核酸に由来する別のポリペプチドもまた、この定義に包含される。スプライシング反応の任意の産物（組換え形態のスプライス産物を含む）がこの定義に含まれる。

【0078】

本明細書において「遺伝子」とは、遺伝形質を規定する因子をいう。通常染色体上に一定の順序に配列している。タンパク質の一次構造を規定する遺伝子を構造遺伝子といい、その発現を左右する遺伝子を調節遺伝子という。本明細書では、「遺伝子」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」ならびに／あるいは「タンパク質」「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」をさすことがある。本明細書において遺伝子の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、または核酸の場合ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を有する。

【0079】

本明細書ではアミノ酸および塩基配列の類似性、相同性および同一性の比較は、配列分析用ツールであるBLASTを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。

【0080】

本明細書において、「ストリンジェントな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、当該分野で慣用される周知の条件をいう。本発明のポリヌクレオチド中から選択されたポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、プラーク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法などを用いることにより、そのようなポリヌクレオチドを得ることができる。具体的には、コロニーあるいはプラーク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC (s a l i n e - s o d i u m c i t r a t e) 溶液 (1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM 塩化ナトリウム、15mM クエン酸ナトリウムである) を用い、

65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。ハイブリダイゼーションは、Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995) などの実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。ここで、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列からは、好ましくは、A配列のみまたはT配列のみを含む配列が除外される。従って、本発明において使用されるポリペプチド（例えば、STAT5または活性型STAT5など）には、本発明で特に記載されたポリペプチドをコードする核酸分子に対して、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子によってコードされるポリペプチドも包含される。

【0081】

「ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド」とは、上記ハイブリダイズ条件下で別のポリヌクレオチドにハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドをいう。ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドとして具体的には、配列番号2、4、6および8で表されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするDNAの塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、好ましくは80%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するポリヌクレオチドを挙げることができる。核酸配列の相同性は、たとえばAltschulら(J. Mol. Biol. 215, 403-410 (1990))が開発したアルゴリズムを使用した検索プログラムBLASTを用いることにより、scoreで類似度が示される。

【0082】

本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」とは、その遺伝子などがインビボで一定の作用を受けて、別の形態になることをいう。好ましくは、遺伝子、ポリヌクレオチドなどが、転写および翻訳されて、ポリペプチドの形態になることをいうが、転写されてmRNAが作製されることも

また発現の一態様であり得る。より好ましくは、そのようなポリペプチドの形態は、翻訳後プロセッシングを受けたものであり得る。好ましい実施形態では、そのような発現されたポリペプチドは、恒常的または一過的に活性化されたSTAT5であり得る。

【0083】

本明細書において、「アミノ酸」は、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体アミノ酸」または「アミノ酸アナログ」とは、天然に存在するアミノ酸とは異なるがもとのアミノ酸と同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体アミノ酸およびアミノ酸アナログは、当該分野において周知である。用語「天然のアミノ酸」とは、天然のアミノ酸のL-異性体を意味する。天然のアミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、メチオニン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、システイン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、γ-カルボキシグルタミン酸、アルギニン、オルニチン、およびリジンである。特に示されない限り、本明細書でいう全てのアミノ酸はL体である。用語「非天然アミノ酸」とは、タンパク質中で通常は天然に見出されないアミノ酸を意味する。非天然アミノ酸の例として、上述のD型アミノ酸、ノルロイシン、パラニトロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、パラフルオロフェニルアラニン、3-アミノ-2-ベンジルプロピオン酸、ホモアルギニンのD体またはL体およびD-フェニルアラニンが挙げられる。「アミノ酸アナログ」とは、アミノ酸ではないが、アミノ酸の物性および／または機能に類似する分子をいう。アミノ酸アナログとしては、例えば、エチオニン、カナバニン、2-メチルグルタミンなどが挙げられる。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様な様式で機能する化合物をいう。

【0084】

アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレ

オチドも同様に、一般に受け入れられた1文字コードにより言及され得る。

【0085】

本明細書中において、「対応する」アミノ酸とは、あるタンパク質分子またはポリペプチド分子において、比較の基準となるタンパク質またはポリペプチドにおける所定のアミノ酸と同様の作用を有するか、または有することが予測されるアミノ酸をいい、特に酵素分子にあっては、活性部位中の同様の位置に存在し触媒活性に同様の寄与をするアミノ酸をいう。また、本発明の活性型STAT5では、対応するアミノ酸は、例えば、リン酸化される部位であり得る。別の実施形態では、本発明の活性型STAT5では、対応するアミノ酸は、二量体化を担うアミノ酸であり得る。

【0086】

本明細書において「ヌクレオチド」は、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体ヌクレオチド」または「ヌクレオチドアナログ」とは、天然に存在するヌクレオチドとは異なるがもとのヌクレオチドと同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログは、当該分野において周知である。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログの例としては、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2'-O-メチルリボヌクレオチド、ペプチド型核酸(PNA)が含まれるが、これらに限定されない。

【0087】

本明細書において、「フラグメント」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド(長さが n)に対して、 $1 \sim n-1$ までの配列長さを有するポリペプチドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ(例えば、11など)もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの

具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11など）もまた、下限として適切であり得る。

【0088】

本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリペプチドまたはタンパク質）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能を発揮する活性が包含される。例えば、ある因子がリガンドである場合、その生物学的活性は、そのリガンドが対応するレセプターに結合する活性を包含する。本発明の活性型STAT5の場合は、その生物学的活性は、少なくともSTAT5が有する活性の少なくとも1つ（核内への移行能、STAT5コンセンサス配列への結合能など）を包含する。別の実施形態では、生物学的活性としては、転写因子としての活性（例えば、STAT5コンセンサス配列への結合能）が挙げられる。

【0089】

本明細書において生物学的活性をアッセイする方法としては、（例えば、上述の活性型STAT5を判定するためのアッセイ）を利用したアッセイが挙げられるがそれらに限定されない。

【0090】

本発明において使用されるポリペプチドを製造する方法としては、例えば、そのポリペプチドを産生する初代培養細胞または株化細胞を培養し、培養上清などから単離または精製することによりそのポリペプチドを得る方法が挙げられる。あるいは、遺伝子操作手法を利用して、そのポリペプチドをコードする遺伝子を適切な発現ベクターに組み込み、これを用いて発現宿主を形質転換し、この形質転換細胞の培養上清から組換えポリペプチドを得ることができる。上記宿主細胞は、生理活性を保持するポリペプチドを発現するものであれば、特に限定されず、従来から遺伝子操作において利用される各種の宿主細胞（例えば、大腸菌、酵母、動物細胞など）を用いることが可能である。このようにして得られた細胞に由来するポリペプチドは、天然型のポリペプチドと実質的に同一の作用を有する限り、アミノ酸配列中の1以上のアミノ酸が置換、付加および／または欠失していてもよく、糖鎖が置換、付加および／または欠失していてもよい。

【0091】

あるアミノ酸は、相互作用結合能力の明らかな低下または消失なしに、例えば、カチオン性領域または基質分子の結合部位のようなタンパク質構造において他のアミノ酸に置換され得る。あるタンパク質の生物学的機能を規定するのは、タンパク質の相互作用能力および性質である。従って、特定のアミノ酸の置換がアミノ酸配列において、またはそのDNAコード配列のレベルにおいて行われ得、置換後もなお、もとの性質を維持するタンパク質が生じ得る。従って、生物学的有用性の明らかな損失なしに、種々の改変が、本明細書において開示されたペプチドまたはこのペプチドをコードする対応するDNAにおいて行われ得る。

【0092】

上記のような改変を設計する際に、アミノ酸の疎水性指数が考慮され得る。タンパク質における相互作用的な生物学的機能を与える際の疎水性アミノ酸指数の重要性は、一般に当該分野で認められている (K y t e, J および D o o l i t t l e, R. F. J. M o l. B i o l. 157 (1) : 105-132, 1982)。アミノ酸の疎水的性質は、生成したタンパク質の二次構造に寄与し、次いでそのタンパク質と他の分子 (例えば、酵素、基質、レセプター、DNA、抗体、抗原など) との相互作用を規定する。各アミノ酸は、それらの疎水性および電荷の性質に基づく疎水性指数を割り当てられる。それらは: イソロイシン (+4.5); バリン (+4.2); ロイシン (+3.8); フェニルアラニン (+2.8); システイン/シスチン (+2.5); メチオニン (+1.9); アラニン (+1.8); グリシン (-0.4); スレオニン (-0.7); セリン (-0.8); トリプトファン (-0.9); チロシン (-1.3); プロリン (-1.6); ヒスチジン (-3.2); グルタミン酸 (-3.5); グルタミン (-3.5); アスパラギン酸 (-3.5); アスパラギン (-3.5); リジン (-3.9); およびアルギニン (-4.5) である。

【0093】

あるアミノ酸を、同様の疎水性指数を有する他のアミノ酸により置換して、そして依然として同様の生物学的機能を有するタンパク質 (例えば、酵素活性において等価なタンパク質) を生じさせ得ることが当該分野で周知である。このよう

なアミノ酸置換において、疎水性指数が ± 2 以内であることが好ましく、 ± 1 以内であることがより好ましく、および ± 0.5 以内であることがさらに好ましい。疎水性に基づくこのようなアミノ酸の置換は効率的であることが当該分野において理解される。米国特許第4、554、101号に記載されるように、以下の親水性指数がアミノ酸残基に割り当てられている：アルギニン（+3.0）；リジン（+3.0）；アスパラギン酸（+3.0 \pm 1）；グルタミン酸（+3.0 \pm 1）；セリン（+0.3）；アスパラギン（+0.2）；グルタミン（+0.2）；グリシン（0）；スレオニン（-0.4）；プロリン（-0.5 \pm 1）；アラニン（-0.5）；ヒスチジン（-0.5）；システイン（-1.0）；メチオニン（-1.3）；バリン（-1.5）；ロイシン（-1.8）；イソロイシン（-1.8）；チロシン（-2.3）；フェニルアラニン（-2.5）；およびトリプトファン（-3.4）。アミノ酸が同様の親水性指数を有しかつ依然として生物学的等価体を与え得る別のものに置換され得ることが理解される。このようなアミノ酸置換において、親水性指数が ± 2 以内であることが好ましく、 ± 1 以内であることがより好ましく、および ± 0.5 以内であることがさらに好ましい。

【0094】

本発明において、「保存的置換」とは、アミノ酸置換において、元のアミノ酸と置換されるアミノ酸との親水性指数または／および疎水性指数が上記のように類似している置換をいう。保存的置換の例は、当業者に周知であり、例えば、次の各グループ内での置換：アルギニンおよびリジン；グルタミン酸およびアスパラギン酸；セリンおよびスレオニン；グルタミンおよびアスパラギン；ならびにバリン、ロイシン、およびイソロイシン、などが挙げられるがこれらに限定されない。

【0095】

本明細書において、「改変体」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオチドなどの物質に対して、一部が変更されているものをいう。そのような改変体としては、置換改変体、付加改変体、欠失改変体、短縮（truncated）改変体、対立遺伝子変異体などが挙げられる。対立遺伝子（allele）とは

、同一遺伝子座に属し、互いに区別される遺伝的改変体のことをいう。従って、「対立遺伝子変異体」とは、ある遺伝子に対して、対立遺伝子の関係にある改変体をいう。「種相同体またはホモログ (homolog)」とは、ある種の中で、ある遺伝子とアミノ酸レベルまたはヌクレオチドレベルで、相同性 (好ましくは、60%以上の相同性、より好ましくは、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上の相同性) を有するものをいう。そのような種相同体を取得する方法は、本明細書の記載から明らかである。「オルソログ (ortholog)」とは、オルソログス遺伝子 (orthologous gene) ともいい、二つの遺伝子がある共通祖先からの種分化に由来する遺伝子をいう。例えば、多重遺伝子構造をもつヘモグロビン遺伝子ファミリーを例にとると、ヒトとマウスの α ヘモグロビン遺伝子はオルソログであるが、ヒトの α ヘモグロビン遺伝子と β ヘモグロビン遺伝子はパラログ (遺伝子重複で生じた遺伝子) である。オルソログは、分子系統樹の推定に有用であることから、本発明の gp130 リガンド (例えば、LIF) のオルソログもまた、本発明において有用であり得る。

【0096】

「保存的 (に改変された) 改変体」は、アミノ酸配列および核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された改変体とは、同一のまたは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸をいい、核酸がアミノ酸配列をコードしない場合には、本質的に同一な配列をいう。遺伝コードの縮重のため、多数の機能的に同一な核酸が任意の所定のタンパク質をコードする。例えば、コドン GCA、GCC、GCG、および GCU はすべて、アミノ酸アラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンにより特定される全ての位置で、そのコドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく、記載された対応するコドンの任意のものに変更され得る。このような核酸の変動は、保存的に改変された変異の1つの種である「サイレント改変 (変異)」である。ポリペプチドをコードする本明細書中のすべての核酸配列はまた、その核酸の可能なすべてのサイレント変異を記載する。当該分野において、核酸中の各コドン (通常メチオニンのための唯一のコドンである AUG、および通常トリプトファンのための唯一のコドンである TGG を除く) が、機能的に同一な分子を産生するために改変

され得ることが理解される。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載された各配列において暗黙に含まれる。好ましくは、そのような改変は、ポリペプチドの高次構造に多大な影響を与えるアミノ酸であるシステインの置換を回避するようになされ得る。

【0097】

本明細書中において、機能的に等価なポリペプチドを作製するために、アミノ酸の置換のほかに、アミノ酸の付加、欠失、または修飾もまた行うことができる。アミノ酸の置換とは、もとのペプチドを1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸で置換することをいう。アミノ酸の付加とは、もとのペプチド鎖に1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸を付加することをいう。アミノ酸の欠失とは、もとのペプチドから1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸を欠失させることをいう。アミノ酸修飾は、アミド化、カルボキシル化、硫酸化、ハロゲン化、アルキル化、グリコシル化、リン酸化、水酸化、アシル化（例えば、アセチル化）などを含むが、これらに限定されない。置換、または付加されるアミノ酸は、天然のアミノ酸であってもよく、非天然のアミノ酸、またはアミノ酸アナログでもよい。天然のアミノ酸が好ましい。

【0098】

本明細書において使用される用語「ペプチドアナログ」とは、ペプチドとは異なる化合物であるが、ペプチドと少なくとも1つの化学的機能または生物学的機能が等価であるものをいう。したがって、ペプチドアナログには、もとのペプチドに対して、1つ以上のアミノ酸アナログが付加または置換されているものが含まれる。ペプチドアナログは、その機能が、もとのペプチドの機能（例えば、 pK_a 値が類似していること、官能基が類似していること、他の分子との結合様式が類似していること、水溶性が類似していることなど）と実質的に同様であるように、このような付加または置換がされている。そのようなペプチドアナログは、当該分野において周知の技術を用いて作製することができる。したがって、ペプチドアナログは、アミノ酸アナログを含むポリマーであり得る。

【0099】

本発明では、発現されるものが恒常的または一過的に活性型 S T A T 5 を生成するものであれば、核酸形態（核酸分子）も使用することができる。このような核酸分子は、発現されるポリペプチドが天然型の活性型 S T A T 5 と実質的に同一の活性を有する限り、上述のようにその核酸の配列の一部が欠失または他の塩基により置換されていてもよく、あるいは他の核酸配列が一部挿入されていてもよい。あるいは、5' 末端および／または 3' 末端に他の核酸が結合していてもよい。また、ポリペプチドをコードする遺伝子をストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、そのポリペプチドと実質的に同一の機能を有するポリペプチドをコードする核酸分子でもよい。このような遺伝子は、当該分野において公知であり、本発明において利用することができる。

【0100】

このような核酸は、周知の P C R 法により得ることができ、化学的に合成することもできる。これらの方法に、例えば、部位特異的変位誘発法、ハイブリダイゼーション法などを組み合わせてもよい。

【0101】

本明細書において、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの「置換、付加または欠失」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対して、それぞれアミノ酸もしくはその代替物、またはヌクレオチドもしくはその代替物が、置き換わること、付け加わることまたは取り除かれることをいう。このような置換、付加または欠失の技術は、当該分野において周知であり、そのような技術の例としては、部位特異的変異誘発技術などが挙げられる。置換、付加または欠失は、1つ以上であれば任意の数でよく、そのような数は、その置換、付加または欠失を有する改変体において目的とする機能（例えば、癌マーカー、神経疾患マーカーなど）が保持される限り、多くすることができる。例えば、そのような数は、1または数個であり得、そして好ましくは、全体の長さの 20% 以内、10% 以内、または 100 個以下、50 個以下、25 個以下などであり得る。

【0102】

本発明において使用されるポリペプチドは、任意の生物由来であり得る。好ま

しくは、その生物は、脊椎動物（例えば、哺乳動物、爬虫類、両生類、魚類、鳥類など）であり、より好ましくは、哺乳動物（例えば、齧歯類（マウス、ラットなど）、霊長類（ヒトなど）など）であり得る。本発明において使用されるポリペプチドは、所望の効果を発揮するかぎり、合成されたものでもよい。そのようなポリペプチドは、当該分野において周知の合成方法によって合成され得る。例えば、自動固相ペプチド合成機を用いた合成方法は、Stewart, J. M. et al. (1984). Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Co.; Grant, G. A. (1992). Synthetic Peptides: A User's Guide, W. H. Freeman; Bodanszky, M. (1993). Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag; Bodanszky, M. et al. (1994). The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag; Fields, G. B. (1997). Phase Peptide Synthesis, Academic Press; Pennington, M. W. et al. (1994). Peptide Synthesis Protocols, Humana Press; Fields, G. B. (1997). Solid-Phase Peptide Synthesis, Academic Pressにおいて記載されている。

【0103】

本発明において使用されるポリペプチドは、抗体のヒンジ領域部分のみとの融合タンパク質を発現させて、ジスルフィド結合にて2量体を形成させる方法、もしくは活性に影響を与えないほかの方法でジスルフィド結合を生じさせる形態で、C末端、N末端または他の場所において発現するように作製された融合タンパク質を含む二量体以上高い比活性を有する多量体型ポリペプチドもまた利用され得る。また、配列番号2または4のような本発明の配列を直列で並べて多量体構造を持たせる方法も本発明において利用可能である。従って遺伝子工学技術により作製される任意の二量体またはそれを超える形態は、本発明の範囲内にある。

【0104】

「抗体」とは、当該分野で通常使用される意味で用いられ、本明細書においては、抗体の全部およびそのフラグメント、誘導体、結合体なども包含する。好ましくは、本発明において使用されるポリペプチドを認識する抗体であり、より好ましくは、本発明において使用されるポリペプチドを特異的に認識する抗体である。そのような抗体は、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のいずれでもよい。本発明の1実施形態において、そのような抗体もまた、本発明の範囲内に包含される。

【0105】

本明細書において「抗原」とは、抗体と結合したり、Bリンパ球、Tリンパ球などの特異的レセプターに結合して、抗体産生および／または細胞障害などの免疫反応をひき起こす物質（例えば、タンパク質、脂質、糖などが挙げられるがそれらに限定されない）をいう。抗体またはリンパ球レセプターとの結合性を、「抗原性」(antigenicity)という。抗体産生などの免疫応答を誘導する特性を「免疫原性」(immunogenicity)という。抗原として使用される物質は、例えば、その目的とする物質（例えば、タンパク質）を少なくとも1つ含む。含まれる物質は、全長が好ましいが、免疫を惹起し得るエピトープを少なくとも一つ含んでいれば、部分配列でもよい。本明細書において、「エピトープ」または「抗原決定基」とは、抗体またはリンパ球レセプターが結合する抗原分子中の部位をいう。エピトープを決定する方法は、当該分野において周知であり、そのようなエピトープは、核酸またはアミノ酸の一次配列が提供されると、当業者はそのような周知慣用技術を用いて決定することができる。エピトープとして使用するためには、少なくとも3アミノ酸の長さの配列が必要であり、好ましくは、この配列は、少なくとも4アミノ酸、5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸、8アミノ酸、9アミノ酸、10アミノ酸、15アミノ酸、20アミノ酸、25アミノ酸の長さの配列が必要であり得る。

【0106】

高分子構造（例えば、ポリペプチド構造）は種々のレベルの構成に関して記述され得る。この構成の一般的な議論については、例えば、Albertsら、M

olecular Biology of the Cell (第3版、1994)、ならびに、CantorおよびSchimmel、Biophysical Chemistry Part I: The Conformation of Biological Macromolecules (1980)を参照。「一次構造」とは、特定のペプチドのアミノ酸配列をいう。「二次構造」とは、ポリペプチド内の局所的に配置された三次元構造をいう。これらの構造はドメインとして一般に公知である。ドメインは、ポリペプチドの緻密単位を形成し、そして代表的には50~350アミノ酸長であるそのポリペプチドの部分である。代表的なドメインは、 β シート(β ストランドなど)および α -ヘリックスのストレッチ(stretch)のような、部分から作られる。「三次構造」とは、ポリペプチドモノマーの完全な三次元構造をいう。「四次構造」とは、独立した三次単位の非共有会的会合により形成される三次元構造をいう。異方性に関する用語は、エネルギー分野において知られる用語と同様に使用される。したがって、本発明において使用されるポリペプチドは、活性型STAT5と同等の能力を有するような高次構造を有する限り、どのようなアミノ酸配列のポリペプチドをも包含し得る。

【0107】

本明細書において、遺伝子が「特異的に発現する」とは、その遺伝子が、生体内の特定の部位または時期において他の部位または時期とは異なる(好ましくは高い)レベルで発現されることをいう。特異的に発現するとは、ある部位(特異的部位)にのみ発現してもよく、それ以外の部位においても発現していてもよい。好ましくは特異的に発現するとは、ある部位においてのみ発現することをいう。従って、本発明の活性型STAT5をコードする遺伝子は、発現が所望される部位または時期に特異的に発現するように操作することができる。そのような技術は、当該分野において周知であり、本明細書において援用した文献に記載されている。

【0108】

本発明において利用され得る一般的な分子生物学的手法としては、Ausubel F. A. ら編(1988)、Current Protocols in

Molecular Biology, Wiley, New York, NY; Sambrook Jら (1987) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; および同3rd Ed. (2001)などを参酌して当業者であれば容易に実施をすることができる。

【0109】

本明細書において遺伝子について言及する場合、「ベクター」とは、目的のポリヌクレオチド配列を目的の細胞へと移入させることができるものをいう。そのようなベクターとしては、動物個体などの宿主細胞において自律複製が可能であるか、または染色体中への組込みが可能で、本発明のポリヌクレオチドの転写に適した位置にプロモーターを含有しているものが例示される。本明細書において、ベクターはプラスミドであり得る。

【0110】

本明細書において「ウイルスベクター」とは、ベクターのうち、ウイルス由来のものをいう。本明細書において「ウイルス」とは、DNAまたはRNAのいずれかをゲノムとして有する、感染細胞内だけで増殖する感染性の微小構造体をいう。ウイルスとしては、レトロウイルス科、トガウイルス科、コロナウイルス科、フラビウイルス科、パラミクソウイルス科、オルトミクソウイルス科、ブニヤウイルス科、ラブドウイルス科、ポックスウイルス科、ヘルペスウイルス科、バキュロウイルス科およびヘパドナウイルス科からなる群より選択される科に属するウイルスが挙げられる。本明細書において「レトロウイルス」とは、RNAの形で遺伝情報を有し、逆転写酵素によってRNAの情報からDNAを合成するウイルスをいう。

【0111】

したがって、「レトロウイルスベクター」とは、レトロウイルスを遺伝子の担い手（ベクター）として使用した形態をいう。本発明において使用される「レトロウイルスベクター」としては、例えば、Moloney Murine Leukemia Virus (MMLV)、Murine Stem Cell

Virus (MSCV) にもとづいたレトロウイルス型発現ベクターなどが挙げられるがそれらに限定されない。好ましくは、レトロウイルスベクターとしては、pGen-、pMSCVなどが挙げられるがそれらに限定されない。

【0112】

「発現ベクター」は、構造遺伝子およびその発現を調節するプロモーターに加えて種々の調節エレメントが宿主の細胞中で作動し得る状態で連結されている核酸配列をいう。調節エレメントは、好ましくは、ターミネーター、薬剤耐性遺伝子のような選択マーカーおよび、エンハンサーを含み得る。生物（例えば、動物）の発現ベクターのタイプおよび使用される調節エレメントの種類が、宿主細胞に応じて変わり得ることは、当業者に周知の事項である。ヒトの場合、本発明に用いる発現ベクターはさらにpCAGGS (Niwa H et al, Gene; 108:193-9 (1991)) を含み得る。

【0113】

「組換えベクター」とは、目的のポリヌクレオチド配列を目的の細胞へと移入させることができるベクターをいう。そのようなベクターとしては、動物個体などの宿主細胞において自律複製が可能、または染色体中への組込みが可能で、本発明のポリヌクレオチドの転写に適した位置にプロモーターを含有しているものが例示される。

【0114】

動物細胞に対する「組換えベクター」としては、pcDNA1/Amp、pcDNA1、pCDM8（いずれもフナコシより市販）、pAGE107（特開平3-22979、Cytotechnology, 3, 133 (1990)）、pREP4 (Invitrogen)、pAGE103 (J. Biochem., 101, 1307 (1987))、pAMo、pAMoA (J. Biol. Chem., 268, 22782-22787 (1993))、pCAGGS (Niwa H et al, Gene; 108:193-9 (1991)) などが例示される。

【0115】

「ターミネーター」は、遺伝子のタンパク質をコードする領域の下流に位置し

、DNAがmRNAに転写される際の転写の終結、ポリA配列の付加に關与する配列である。ターミネーターは、mRNAの安定性に關与して遺伝子の発現量に影響を及ぼすことが知られている。ターミネーターとしては、哺乳動物由来のターミネーターのほかに、CaMV35Sターミネーター、ノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター(Tnos)、タバコPR1a遺伝子のターミネーターが挙げられるが、これに限定されない。

【0116】

本明細書において用いられる「プロモーター」とは、遺伝子の転写の開始部位を決定し、またその頻度を直接的に調節するDNA上の領域をいい、RNAポリメラーゼが結合して転写を始める塩基配列である。プロモーターの領域は、通常、推定タンパク質コード領域の第1エキソンの上流約2kbp以内の領域であることが多いので、DNA解析用ソフトウェアを用いてゲノム塩基配列中のタンパク質コード領域を予測すれば、プロモーター領域を推定することはできる。推定プロモーター領域は、構造遺伝子ごとに変動するが、通常構造遺伝子の上流にあるが、これらに限定されず、構造遺伝子の下流にもあり得る。好ましくは、推定プロモーター領域は、第一エキソン翻訳開始点から上流約2kbp以内に存在する。

【0117】

本明細書において、遺伝子の発現について用いられる場合、一般に、「部位特異性」とは、生物（例えば、動物）の部位（例えば、動物の場合、心臓、心筋細胞など）におけるその遺伝子の発現の特異性をいう。「時期特異性」とは、生物（例えば、動物）の特定の段階（例えば、発作時など）に応じたその遺伝子の発現の特異性をいう。そのような特異性は、適切なプロモーターを選択することによって、所望の生物に導入することができる。

【0118】

本明細書において、本発明のプロモーターの発現が「構成的」とあるとは、生物のすべての組織において、その生物の生長の幼若期または成熟期のいずれにあってもほぼ一定の量で発現される性質をいう。具体的には、本明細書の実施例と同様の条件でノーザンブロット分析したとき、例えば、任意の時点で（例えば、

2点以上の同一または対応する部位のいずれにおいても実質的に発現がみられるとき、本発明の定義上、発現が構成的であるという。構成的プロモーターは、通常の生育環境にある生物の恒常性維持に役割を果たしていると考えられる。本発明のプロモーターの発現が「ストレス応答性」であるとは、少なくとも1つのストレス（例えば、分化刺激など）が生物体に与えられたとき、その発現量が変化する性質をいう。特に、発現量が増加する性質を「ストレス誘導性」といい、発現量が減少する性質を「ストレス減少性」という。「ストレス減少性」の発現は、正常時において、発現が見られることを前提としているので、「構成的」な発現と重複する概念である。これらの性質は、生物の任意の部分からRNAを抽出してノーザンブロット分析で発現量を分析することまたは発現されたタンパク質をウェスタンブロットにより定量することにより決定することができる。ストレス誘導性のプロモーターを本発明において使用されるポリペプチドをコードする核酸とともに組み込んだベクターで形質転換された動物または動物の一部（特定の細胞、組織など）は、そのプロモーターの誘導活性をもつ刺激因子を用いることにより、ある条件（例えば、分化刺激時）下での本発明において使用されるポリペプチドの発現を行うことができる。

【0119】

「エンハンサー」は、目的遺伝子の発現効率を高めるために用いられ得る。植物において使用する場合、エンハンサーとしては、ヒトサイトメガロウイルス前初期エンハンサー（human cytomegalovirus immediate-early enhancer）の上流側の配列を含むエンハンサー領域が好ましい。エンハンサーは複数個用いられ得るが1個用いられてもよいし、用いなくともよい。

【0120】

本明細書において「作動可能に連結された（る）」とは、所望の配列の発現（作動）がある転写翻訳調節配列（例えば、プロモーター、エンハンサーなど）または翻訳調節配列の制御下に配置されることをいう。プロモーターが遺伝子に作動可能に連結されるためには、通常、その遺伝子のすぐ上流にプロモーターが配置されるが、必ずしも隣接して配置される必要はない。

【0121】

本発明は、任意の動物において利用され得る。そのような動物における利用のための技術は、当該分野において周知であり、かつ、慣用されるものであり、例えば、Ausubel F. A. ら編 (1988)、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley、New York、NY; Sambrook J ら (1987) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載される。

【0122】

「形質転換体」とは、形質転換によって作製された細胞などの生命体の全部または一部をいう。形質転換体としては、動物細胞などが例示される。形質転換体は、その対象に依存して、形質転換細胞、形質転換組織、形質転換宿主などともいわれ、本明細書においてそれらの形態をすべて包含するが、特定の文脈において特定の形態を指し得る。

【0123】

動物細胞としては、骨格筋細胞、心筋細胞、骨髄細胞、肺性幹細胞などが例示される。

【0124】

本明細書において「動物」は、当該分野において最も広義で用いられ、脊椎動物および無脊椎動物を含む。動物としては、哺乳綱、鳥綱、爬虫綱、両生綱、魚綱、昆虫綱、蠕虫綱などが挙げられるがそれらに限定されない。好ましくは、動物は、哺乳動物を含む。

【0125】

本発明において使用されるポリペプチド、核酸、キット、システム、組成物および方法は、哺乳動物だけでなく他の動物を含む動物全体において機能することが企図される。なぜなら、STAT5に対応するリガンドは、哺乳動物以外の生物においても存在することが知られているからである。

【0126】

本明細書において使用される「細胞」は、当該分野において用いられる最も広義の意味と同様に定義され、多細胞生物の組織の構成単位であって、外界を隔離する膜構造に包まれ、内部に自己再生能を備え、遺伝情報およびその発現機構を有する生命体をいう。

【0127】

本明細書において、生物の「組織」とは、細胞の集団であって、その集団において一定の同様の作用を有するものをいう。従って、組織は、臓器（器官）の一部であり得る。臓器（器官）内では、同じ働きを有する細胞を有することが多いが、微妙に異なる働きを有するものが混在することもあることから、本明細書において組織は、一定の特性を共有する限り、種々の細胞を混在して有していてもよい。

【0128】

本明細書において、「器官（臓器）」とは、1つ独立した形態をもち、1種以上の組織が組み合わさって特定の機能を営む構造体を形成したものをいう。動物では、胃、肝臓、腸、脾臓、肺、気管、鼻、心臓、動脈、静脈、リンパ節（リンパ管系）、胸腺、卵巣、眼、耳、舌、皮膚等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0129】

本明細書において、「トランスジェニック」とは、特定の遺伝子がある生物に組み込むことまたは組み込まれた生物（例えば、動物（マウスなど）または植物を含む）をいう。

【0130】

本発明においてトランスジェニック生物が利用される場合、そのようなトランスジェニック生物は、マイクロインジェクション法（微量注入法）、ウィルスベクター法、ES細胞法（胚性幹細胞法）、精子ベクター法、染色体断片を導入する方法（トランスゾミック法）、エピゾーム法などを利用したトランスジェニック動物の作製技術を使用して作製することができる。そのようなトランスジェニック動物の作成技術は当該分野において周知である。

【0131】

本発明の因子によって調製された細胞（例えば、心筋細胞）または細胞組成物は、生物への移入に適した形態であれば、任意の製剤形態で提供され得る。そのような製剤形態としては、例えば、液剤、注射剤、徐放剤が挙げられる。投与経路としては経口投与、非経口投与、患部への直接投与などが挙げられる。

【0132】

注射剤は当該分野において周知の方法により調製することができる。例えば、適切な溶剤（生理食塩水、PBSのような緩衝液、滅菌水など）に溶解した後、フィルターなどで濾過滅菌し、次いで無菌容器（例えば、アンプルなど）に充填することにより注射剤を調製することができる。この注射剤には、必要に応じて、慣用の薬学的キャリアを含めてもよい。非侵襲的なカテーテルを用いる投与方法も使用され得る。

【0133】

1つの実施形態において、本発明の因子（例えば、活性型STAT5またはそれをコードする核酸など）は、徐放性形態で提供され得る。徐放性形態の剤型は、本発明において使用され得る限り、当該分野で公知の任意の形態であり得る。そのような形態としては、例えば、ロッド状（ペレット状、シリンダー状、針状など）、錠剤形態、ディスク状、球状、シート状のような製剤であり得る。徐放性形態を調製する方法は、当該分野において公知であり、例えば、日本薬局方、米国薬局方および他の国の薬局方などに記載されている。徐放剤（持続性投与剤）を製造する方法としては、例えば、複合体から薬物の解離を利用する方法、水性懸濁注射液とする方法、油性注射液または油性懸濁注射液とする方法、乳濁製注射液（o/w型、w/o型の乳濁製注射液など）とする方法などが挙げられる。

【0134】

本発明の組成物またはキットはまた、さらに生体親和性材料を含み得る。この生体親和性材料は、例えば、シリコーン、コラーゲン、ゼラチン、グリコール酸・乳酸の共重合体、エチレンビニル酢酸共重合体、ポリウレタン、ポリエチレン、ポリテトラフルオロエチレン、ポリプロピレン、ポリアクリレート、ポリメタ

クリレートからなる群より選択される少なくとも1つを含み得る。成型が容易であることからシリコンが好ましい。生分解性高分子の例としては、コラーゲン、ゼラチン、 α -ヒドロキシカルボン酸類（例えば、グリコール酸、乳酸、ヒドロキシ酪酸など）、ヒドロキシジカルボン酸類（例えば、リンゴ酸など）およびヒドロキシトリカルボン酸（例えば、クエン酸など）からなる群より選択される1種以上から無触媒脱水重縮合により合成された重合体、共重合体またはこれらの混合物、ポリ- α -シアノアクリル酸エステル、ポリアミノ酸（例えば、ポリ- γ -ベンジル-L-グルタミン酸など）、無水マレイン酸系共重合体（例えば、スチレン-マレイン酸共重合体など）のポリ酸無水物などが挙げられる。重合の形式は、ランダム、ブロック、グラフトのいずれでもよく、 α -ヒドロキシカルボン酸類、ヒドロキシジカルボン酸類、ヒドロキシトリカルボン酸類が分子内に光学活性中心を有する場合、D-体、L-体、DL-体のいずれでも用いることが可能である。好ましくは、グリコール酸・乳酸の共重合体が使用され得る。

【0135】

核酸分子を含む本発明の組成物を投与する場合、核酸分子は、非ウイルスベクター形態またはウイルスベクター形態による投与、または *naked DNA* の直接投与の形態などで投与され得る。このような投与形態は、当該分野において周知であり、例えば、別冊実験医学「遺伝子治療の基礎技術」羊土社、1996；別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに詳説されている。

【0136】

非ウイルスベクター形態の場合、リポソームを用いて核酸分子を導入する方法（リポソーム法、HVJ-リポソーム法、カチオニックリポソーム法、リポフェクチン法、リポフェクトアミン法など）、マイクロインジェクション法、遺伝子銃（Gene Gun）でキャリア（金属粒子）とともに核酸分子を細胞に移入する方法などが利用され得る。発現ベクターとしては、例えば、pCAGGS（Gene 108:193-9、Niwa H, Yamamura K, Miyazaki J (1991)）、pBJ-CMV、pCDNA3.1、pZeoSV（Invitrogen、Stratageneなどから入手可能である）

などが挙げられる。

【0137】

HVJーリポソーム法は、脂質二重膜で作製されたりポソーム中に核酸分子を封入し、このリポソームと不活化したセンダイウイルス (Hemagglutinating virus of Japan、HVJ) とを融合させることを包含する。このHVJーリポソーム法は、従来のリポソーム法よりも、細胞膜との融合活性が非常に高いことを特徴とする。HVJーリポソーム調製法は、別冊実験医学「遺伝子治療の基礎技術」羊土社、1996；別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997に詳述されている。HVJとしては、任意の株が利用可能であり（例えば、ATCC VR-907、ATCC VR-105など）、Z株が好ましい。

【0138】

本発明の組成物は、ウイルスベクターの核酸形態で提供される場合、組換えアデノウイルス、レトロウイルスなどのウイルスベクターが利用される。無毒化したレトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス、ポリオウイルス、シンドビスウイルス、センダイウイルス、SV40、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) などのDNAウイルスまたはRNAウイルスに、活性型STAT5をコードする核酸またはSTAT5をコードする核酸を導入し、細胞または組織にこの組換えウイルスを感染させることにより、細胞または組織内に遺伝子を導入することができる。これらウイルスベクターでは、アデノウイルスの感染効率が他のウイルスベクターによる効率よりも遙かに高いことから、アデノウイルスベクター系を用いることが好ましい。

【0139】

Naked DNA法の場合、上述の非ウイルスベクターである発現プラスミドを生理食塩水などに溶解し、そのまま投与する。例えば、Tsurumi Y, Kearney M, Chen D, Silver M, Takeshita S, Yang J, Symes JF, Isner JM, Circulation 98 (Suppl. II), 382-388 (1997) に記載され

る方法により、生物の器官の組織などに直接注入することができる。

【0140】

従って、本発明の組成物およびキットにおいて含まれる活性成分としてのポリペプチド（例えば、活性型STAT5など）の量は、例えば、成人（体重約60kg）の場合、約1 μ g～約1000mg、好ましくは約5 μ g～約100mgであり得る。このポリペプチドの量の範囲の下限は、例えば、約1 μ g、約2 μ g、約3 μ g、約4 μ g、約5 μ g、約6 μ g、約7 μ g、約8 μ g、約9 μ g、約10 μ g、約15 μ g、約20 μ gなど、約1 μ g～約1mgの間の任意の数値であり得る。このポリペプチドの量の範囲の上限は、例えば、約1000mg、約900mg、約800mg、約700mg、約600mg、約500mg、約400mg、約300mg、約200mg、約100mg、約75mg、約50mg、約25mg、約10mg、約5mgなど、約1000mg～約1mgの任意の数値であり得る。

【0141】

本発明の活性成分が核酸形態（例えば、活性型STAT5をコードする核酸またはSTAT5をコードする核酸など）の場合、成人（体重約60kg）の場合、約1 μ g～約10mg、好ましくは約1 μ g～約1000 μ g、より好ましくは約5 μ g～約400 μ gであり得る。この核酸の量の範囲の下限は、例えば、約1 μ g、約2 μ g、約3 μ g、約4 μ g、約5 μ g、約6 μ g、約7 μ g、約8 μ g、約9 μ g、約10 μ g、約15 μ g、約20 μ gなど、約1 μ g～約20 μ gの間の任意の数値であり得る。この核酸の量の範囲の上限は、例えば、約10mg、約9mg、約8mg、約7mg、約6mg、約5mg、約4mg、約3mg、約2mg、約1mg、約750 μ g、約500 μ g、約250 μ g、約100 μ gなど、約10mg～約10 μ gの任意の数値であり得る。2種類以上の細胞生理活性物質（SCFなど）が含まれる場合も、上記の量が個々に適用される。ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターとして投与される場合は、通常、0.0001～100mg、好ましくは0.001～10mg、より好ましくは0.01～1mgである。投与頻度としては、例えば、毎日～数ヶ月に1回（例えば、1週間に1回～1ヶ月に1回）の投与が挙げられる。

【0142】

本発明において調製された細胞を含む組成物において含まれる細胞の量は、例えば、約 1×10^3 細胞～約 1×10^{11} 細胞、好ましくは約 1×10^4 細胞～約 1×10^{10} 細胞、より好ましくは約 1×10^5 細胞～約 1×10^9 細胞などであり得る。これらの細胞は、例えば、約0.1ml、0.2ml、0.5ml、1mlの生理食塩水のような溶液として存在し得る。細胞の量の範囲の上限としては、例えば、約 1×10^{11} 細胞、約 5×10^{10} 細胞、約 2×10^{10} 細胞、約 1×10^{10} 細胞、約 5×10^9 細胞、約 2×10^9 細胞、約 1×10^9 細胞、約 5×10^8 細胞、約 2×10^8 細胞、約 1×10^8 細胞、約 5×10^7 細胞、約 2×10^7 細胞、約 1×10^7 細胞などが挙げられる。細胞の量の下限としては、例えば、約 1×10^3 細胞、約 2×10^3 細胞、約 5×10^3 細胞、約 1×10^4 細胞、約 2×10^4 細胞、約 5×10^4 細胞、約 1×10^5 細胞、約 2×10^5 細胞、約 5×10^5 細胞、約 1×10^6 細胞などが挙げられる。

【0143】

本明細書においてポリペプチド発現の「検出」または「定量」は、例えば、mRNAの測定および免疫学的測定方法を含む適切な方法を用いて達成され得る。分子生物学的測定方法としては、例えば、ノーザンブロット法、ドットブロット法またはPCR法などが例示される。免疫学的測定方法としては、例えば、方法としては、マイクロタイタープレートを用いるELISA法、RIA法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法などが例示される。また、定量方法としては、ELISA法またはRIA法などが例示される。

【0144】

「発現量」とは、目的の細胞などにおいて、ポリペプチドまたはmRNAが発現される量をいう。そのような発現量としては、本発明の抗体を用いてELISA法、RIA法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法などの免疫学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明ポリペプチドのタンパク質レベルでの発現量、またはノーザンブロット法、ドットブロット法、PCR法などの分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明において使用されるポリペプチドのmRNAレベルでの発現量が挙げられ

る。「発現量の変化」とは、上記免疫学的測定方法または分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明において使用されるポリペプチドのタンパク質レベルまたはmRNAレベルでの発現量が増加あるいは減少することを意味する。

【0145】

本明細書において「指示書」は、本発明の医薬などを投与する方法を医師、患者など投与を行う人に対して記載したものである。この指示書は、本発明の医薬などを心筋梗塞発作直後（例えば、48時間以内、36時間以内、24時間以内、12時間以内、好ましくは6時間以内など）に投与することを指示する文言が記載されている。また、指示書には、投与部位として、骨格筋に投与（例えば、注射などによる）することを指示する文言が記載されていてもよい。この指示書は、本発明が実施される国の監督官庁（例えば、日本であれば厚生労働省、米国であれば食品医薬品局（FDA）など）が規定した様式に従って作成され、その監督官庁により承認を受けた旨が明記される。指示書は、いわゆる添付文書（package insert）であり、通常は紙媒体で提供されるが、それに限定されず、例えば、電子媒体（例えば、インターネットで提供されるホームページ、電子メール）のような形態でも提供され得る。

【0146】

本発明が対象とする「疾患」は、大量の幹細胞またはそれに由来する分化細胞、組織、臓器を必要とするものであれば、どのようなものでもよい。本発明により処置され得る疾患または障害は、本発明の幹細胞が分化し得る分化細胞、組織または臓器の障害に関連する疾患または障害であり得る。

【0147】

1つの実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は循環器系（血液細胞など）であり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：貧血（例えば、再生不良性貧血（特に重症再生不良性貧血）、腎性貧血、癌性貧血、二次性貧血、不応性貧血など）、癌または腫瘍（例えば、白血病）およびその化学療法処置後の造血不全、血小板減少症、急性骨髄性白血病（特に、第1寛解期（High-risk群）、第2寛解期以

降の寛解期)、急性リンパ性白血病(特に、第1寛解期、第2寛解期以降の寛解期)、慢性骨髄性白血病(特に、慢性期、移行期)、悪性リンパ腫(特に、第1寛解期(High-risk群)、第2寛解期以降の寛解期)、多発性骨髄腫(特に、発症後早期)など。

【0148】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、神経系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：痴呆症、脳卒中およびその後遺症、脳腫瘍、脊髄損傷。

【0149】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、免疫系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：T細胞欠損症、白血病。

【0150】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、運動器・骨格系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：骨折、骨粗鬆症、関節の脱臼、亜脱臼、捻挫、靱帯損傷、変形性関節症、骨肉腫、ユーイング肉腫、骨形成不全症、骨軟骨異形成症。

【0151】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、皮膚系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：無毛症、黒色腫、皮膚悪性リンパ腫、血管肉腫、組織球症、水疱症、膿疱症、皮膚炎、湿疹。

【0152】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、内分泌系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：視床下部・下垂体疾患、甲状腺疾患、副甲状腺(上皮小体)疾患、副腎皮質・髄質疾患、糖代謝異常、脂質代謝異常、タンパク質代謝異常、核酸代謝異常、先天性代謝異常(フェニルケトン尿症、ガラクトース血症、

ホモシスチン尿症、メープルシロップ尿症)、無アルブミン血症、アスコルビン酸合成能欠如、高ビリルビン血症、高ビリルビン尿症、カリクレイン欠損、肥満細胞欠損、尿崩症、バソプレッシン分泌異常、侏儒症、ウオルマン病(酸リパーゼ(Acid lipase)欠損症)、ムコ多糖症VI型。

【0153】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、呼吸器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：肺疾患(例えば、肺炎、肺癌など)、気管支疾患。

【0154】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、消化器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：食道疾患(たとえば、食道癌)、胃・十二指腸疾患(たとえば、胃癌、十二指腸癌)、小腸疾患・大腸疾患(たとえば、大腸ポリープ、結腸癌、直腸癌など)、胆道疾患、肝臓疾患(たとえば、肝硬変、肝炎(A型、B型、C型、D型、E型など)、劇症肝炎、慢性肝炎、原発性肝癌、アルコール性肝障害、薬物性肝障害)、膵臓疾患(急性膵炎、慢性膵炎、膵臓癌、嚢胞性膵疾患)、腹膜・腹壁・横隔膜疾患(ヘルニアなど)、ヒルシュスプラング病。

【0155】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、泌尿器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：腎疾患(腎不全、原発性糸球体疾患、腎血管障害、尿細管機能異常、間質性腎疾患、全身性疾患による腎障害、腎癌など)、膀胱疾患(膀胱炎、膀胱癌など)。

【0156】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、生殖器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：男性生殖器疾患(男性不妊、前立腺肥大症、前立腺癌、精巣癌など)、女性生殖器疾患(女性不妊、卵巣機能障害、子宮筋腫、子宮腺筋症

、子宮癌、子宮内膜症、卵巣癌、絨毛性疾患など）。

【0157】

別の実施形態において、上記分化細胞、組織または臓器は、循環器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：心不全、狭心症、心筋梗塞、不整脈、弁膜症、心筋・心膜疾患、先天性心疾患（たとえば、心房中隔欠損、心室中隔欠損、動脈管開存、ファロー四徴）、動脈疾患（たとえば、動脈硬化、動脈瘤）、静脈疾患（たとえば、静脈瘤）、リンパ管疾患（たとえば、リンパ浮腫）。

【0158】

本発明の幹細胞によって、上述のような疾患を処置するにおいて、従来の天然物由来の幹細胞移植治療に伴う副作用（特に、異物、異種細胞に伴うもの、例えば、感染、移植片対宿主病など）が回避された。この効果は、多能性を維持しつつ自己複製を保持させることを可能にすることで、初めて効率よく達成されたものであり、従来技術では不可能であったかまたは困難であった格別の効果といえる。

【0159】

（細胞分化）

本発明では、通常幹細胞が使用され得るが本発明の因子による処理によって心筋細胞になることができる細胞であれば、どのような細胞でも使用することができる。「幹細胞」とは、自己複製能と多分化能を有した細胞と定義され、実際には組織が傷害を受けたときに少なからずその組織を再生することができる細胞をいう。本発明において使用される幹細胞は、胚性幹細胞（ES）または組織幹細胞（組織特異的幹細胞または体性幹細胞ともいう）であり得る。胚性幹細胞とは初期胚に由来する多能性幹細胞をいう。胚性幹細胞は、1981年に初めて樹立され、1989年以降ノックアウトマウス作製にも応用されている。1998年にはヒト胚性幹細胞が樹立されており、再生医学にも利用されつつある。従って、本発明の1つの好ましい実施形態では、細胞として胚性幹細胞（Embryonic stem cellsとEmbryonic germ cells）が使用され得る。別の好ましい実施形態では、組織幹細胞（例えば、骨髄細胞（

例えば、造血幹細胞)) が使用され得る。

【0160】

組織幹細胞は、胚性幹細胞とは異なり、分化の方向が比較的限定されている細胞であり、組織中に存在し、未分化な細胞内構造をしている。組織幹細胞は、核／細胞質比が高く、細胞内小器官が乏しい。組織幹細胞は、概して、多分化能を有し、細胞周期が遅く、個体の一生以上に増殖能を維持する。従って、本発明の1つの好ましい実施形態において、細胞として血液細胞へと方向付けられた組織幹細胞が使用され得る。

【0161】

組織幹細胞は、由来により、外胚葉、中胚葉、内胚葉由来の幹細胞に分類され得る。外胚葉由来の組織幹細胞には、脳に存在する神経幹細胞、皮膚存在にする表皮幹細胞、毛包幹細胞および色素幹細胞が含まれる。中胚葉由来の組織幹細胞には、骨髓中および血液中に認められるに血管幹細胞、造血幹細胞および間葉系幹細胞が含まれる。内胚葉由来の組織幹細胞は主に臓器に存在し、肝幹細胞、膵幹細胞、腸管上皮幹細胞が含まれる。そのほかに精層および卵層には生殖系幹細胞 (germ line stem cells) が存在する。本発明の好ましい実施形態では、中胚葉由来の幹細胞が使用され得る。本発明のより好ましい実施形態では、骨髓細胞 (例えば、造血幹細胞) が使用され得る。

【0162】

由来する部位により分類すると、組織幹細胞は、例えば、皮膚系、消化器系、骨髓系、神経系などに分けられる。皮膚系の組織幹細胞としては、表皮幹細胞、毛嚢幹細胞などが挙げられる。消化器系の組織幹細胞としては、膵 (共通) 幹細胞、肝幹細胞などが挙げられる。骨髓系の組織幹細胞としては、造血幹細胞、間葉系幹細胞などが挙げられる。神経系の組織幹細胞としては、神経幹細胞、網膜幹細胞などが挙げられる。本発明の1つの実施形態では、予想外に骨髓細胞が好適であることが判明した。

【0163】

好ましい実施形態において、本発明では、骨髓細胞をそのまま供給源として使用することもできるし、濃縮または純化したある特定の細胞集団 (例えば、組織

幹細胞)を細胞供給源として用いることができる。

【0164】

本明細書において「再生」とは、損傷した組織ないし臓器が元通りに回復することをいい、病的再生ともいう。生物の体は一生の間に外傷や病気によって臓器の一部を失ったり、大きな傷害を受けたりする。その場合、損傷した臓器が再生できるか否かは、臓器によって（または動物種によって）異なる。自然には再生できない臓器（または組織）を再生させ、機能を回復させようというのが再生医学である。組織が再生したかどうかは、その機能が改善したかにどうかによって判定することができる。哺乳動物は、組織・器官（臓器）を再生する力のある程度備えている（例えば、皮膚、肝臓および血液の再生）。しかし、心臓、肺、脳などの臓器は再生能力に乏しく、一旦損傷すると、その機能を再生させることができないと考えられてきた。従って、従来であれば、例えば、心臓が損傷した場合、心臓移植による処置しかほとんど有効な措置がなかった。

【0165】

再生能力の高い臓器には幹細胞が存在することが古くから想定されていた。この概念が正しいことは動物モデルを用いた実験的骨髄移植によって証明された。そして、その後の研究によって骨髄中の幹細胞がすべての血液細胞再生の源であることが明らかにされた。しかし、骨髄細胞が心筋細胞の源であるかどうかは判っていなかった。幹細胞は骨髄、皮膚等の再生能力の高い臓器に存在することも明らかにされた。さらに、再生されないと長年、思われてきた脳にも幹細胞が存在することが明らかとなってきた。すなわち、体内のあらゆる臓器には幹細胞が存在し、多かれ少なかれ、各臓器の再生を司っていることがわかってきた。また、各組織に存在する幹細胞には予想以上に可塑性があり、ある臓器中の幹細胞は他の臓器の再生にも利用できる可能性が指摘されている。

【0166】

本明細書において、「分化」または「細胞分化」とは、1個の細胞の分裂によって由来した娘細胞集団の中で形態的・機能的に質的な差をもった二つ以上のタイプの細胞が生じてくる現象をいう。従って、元来特別な特徴を検出できない細胞に由来する細胞集団（細胞系譜）が、特定のタンパク質の産生などはっきりし

た特徴を示すに至る過程も分化に包含される。現在では細胞分化を、ゲノム中の特定の遺伝子群が発現した状態と考えることが一般的であり、このような遺伝子発現状態をもたらす細胞内あるいは細胞外の因子または条件を探索することにより細胞分化を同定することができる。細胞分化の結果は原則として安定であって、特に動物細胞では、別の型の細胞に分化することは例外的にしか起こらない。従って、「未分化」とは、形態的・機能的に質的な差を未だ持たない細胞の状態をいう。

【0167】

本明細書において未分化状態の「維持」は、多能性を保持することをいう。従って、未分化状態が維持されているかどうかは、多能性を保持しているかどうかを判定することによって判断することができる。

【0168】

本明細書において幹細胞の「増幅 (expansion)」とは、その幹細胞の自己増幅能および多能性 (多分化能) を保持したまま細胞数が増加することをいう。

【0169】

本明細書において「分化 (した) 細胞」とは、機能および形態が特殊化した細胞 (例えば、骨格筋細胞、神経細胞、心筋細胞、血液細胞など) をいい、幹細胞とは異なり、多能性はないか、またはほとんどない。分化した細胞としては、例えば、表皮細胞、脾実質細胞、脾管細胞、肝細胞、胆管細胞、血液細胞 (例えば、赤血球、血小板、T細胞、B細胞など)、心筋細胞、骨格筋細胞、骨芽細胞、骨格筋芽細胞、神経細胞、血管内皮細胞、色素細胞、平滑筋細胞、脂肪細胞、骨細胞、軟骨細胞などが挙げられる。従って、本発明の1つの実施形態において、ある原料細胞を本発明の因子 (たとえば、活性型STAT5ポリペプチドまたは核酸) で処理することによって、白血球のような分化細胞に分化させることができる場合、そのような分化細胞もまた本発明の範囲内にある。

【0170】

本発明の供給源として使用される細胞は、本発明において使用されるポリペプチド、核酸、組成物、キットおよび／または医薬での処理により、心筋細胞へと

分化することができる。

【0171】

本明細書において、「多能性」または「多分化能」とは、互換可能に使用され、細胞の性質をいい、種々の組織または器官（臓器）に属する細胞に分化し得る能力をいう。通常、細胞の多能性は発生が進むにつれて制限され、成体では一つの組織または器官を構成する分化細胞が別の組織または器官の細胞に変化することは少ない。したがって多能性は通常失われている。これが起きる場合通常病的な状態であり、化生（*metaplasia*）と呼ばれる。しかし間葉系細胞では比較的単純な刺激で他の間葉性細胞にかわり化生を起こしやすいので多能性の程度は高い。従って、本発明の原料細胞としては、多能性を有する細胞であることが好ましくあり得るが、これは必ずしも必要ではない。

【0172】

本発明で用いられる細胞は、どの生物由来の細胞（例えば、脊椎動物、無脊椎動物）でもよい。好ましくは、脊椎動物由来の細胞が用いられ、より好ましくは、哺乳動物（例えば、霊長類、齧歯類など）由来の細胞が用いられる。さらに好ましくは、霊長類由来の細胞が用いられる。最も好ましくはヒト由来の細胞が用いられる。

【0173】

本明細書において「生体内」または「インビボ」（*in vivo*）とは、生体の内部をいう。特定の文脈において、「生体内」は、目的とする組織または器官が配置されるべき位置をいう。

【0174】

本明細書において「インビトロ」とは、種々の研究目的のために生体の一部分が「生体外に」（例えば、試験管内に）摘出または遊離されている状態をいう。インビボと対照をなす用語である。

【0175】

本明細書において「エキソビボ」とは、遺伝子導入を行うための標的細胞を被験体より抽出し、インビトロで治療遺伝子を導入した後に、再び同一被験体に戻す場合、一連の動作をエキソビボという。

【0176】

本明細書において「被験体」とは、本発明の処置が適用される生物をいい、「患者」ともいわれる。患者または被験体は好ましくは、ヒトであり得る。

【0177】

本明細書において「レシピエント」（受容者）とは、移植片または移植体を受け取る個体といい、「宿主」とも呼ばれる。これに対し、移植片または移植体を提供する個体は、「ドナー」（供与者）という。

【0178】

本発明の方法または組織グラフトで必要に応じて使用される細胞は、同系由来（自己（自家）由来）でも、同種異系由来（他個体（他家）由来）でも、異種由来でもよい。拒絶反応が考えられることから、自己由来の細胞が好ましいが、拒絶反応が問題でない場合同種異系由来であってもよい。また、拒絶反応を起こすものも必要に応じて拒絶反応を解消する処置を行うことにより利用することができる。拒絶反応を回避する手順は当該分野において公知であり、例えば、新外科学体系、心臓移植・肺移植 技術的、倫理的整備から実施に向けて（改訂第3版）に記載されている。そのような方法としては、例えば、免疫抑制剤、ステロイド剤の使用などの方法が挙げられる。拒絶反応を予防する免疫抑制剤は、現在、「シクロスポリン」（サンディミュン／ネオーラル）、「タクロリムス」（プロGRAF）、「アザチオプリン」（イムラン）、「ステロイドホルモン」（プレドニン、メチルプレドニン）、「T細胞抗体」（OKT3、ATGなど）があり、予防的免疫抑制療法として世界の多くの施設で行われている方法は、「シクロスポリン、アザチオプリン、ステロイドホルモン」の3剤併用である。免疫抑制剤は、本発明の分化細胞組成物または医薬と同時期に投与されることが望ましいが、必ずしも必要ではない。従って、免疫抑制効果が達成される限り免疫抑制剤は本発明の再生・治療方法の前または後にも投与され得る。

【0179】

本明細書において用いられる「血管新生（作用／活性）」とは、ある因子が標的に作用したとき、その標的において血管を新たに形成する能力をいう。本発明において用いられる代表的な幹細胞である造血幹細胞は、一般に、血管新生作用

を有する。血管新生作用を測定する方法としては、代表的には、コントラスト剤を用いた超音波測定、血管に特異的な遺伝子産物に対する抗体を用いた血管数計数などが挙げられる。本明細書において、ある因子が血管新生作用を有するか否かは、第VII因子関連抗原等で免疫組織化学染色した後に血管数を計数することによって判定される。この計数方法では、検体を10%の緩衝化ホルマリンで固定し、OCT Compound中包埋し、各々の検体から数個の連続切片を調製し、凍結する。次いで、凍結切片をPBS中の2%パラホルムアルデヒド溶液で5分間、室温にて固定し、3%過酸化水素を含むメタノール中に15分間浸漬し、次いでPBSで洗浄する。このサンプルをウシ血清アルブミン溶液で約10分間覆って、非特異的反応をブロックする。検体を、HRPと結合する、第VII因子関連抗原に対するEPOS結合体化抗体と共に一晩インキュベートする。サンプルをPBSで洗浄した後、これらを、ジアミノベンジジン溶液（例えば、PBS中、0.3mg/mlジアミノベンジジン）中に浸漬して、陽性染色を得る。染色された血管内皮細胞を、例えば、200倍の倍率の光学顕微鏡下で計数し、例えば、計数結果を、1平方ミリメートルあたりの血管の数としてあらわす。特定の処置後、血管数が統計学的に有意に増加しているか否かを判定することにより、血管新生活性を判定することができる。

【0180】

本明細書において用いられる「細胞生理活性物質」(cellular physiologically active substance)とは、細胞に作用する物質を言う。細胞生理活性物質には、サイトカインおよび増殖因子が含まれる。細胞生理活性物質は、天然に存在するものであっても、合成されたものでもよい。好ましくは、細胞生理活性物質は、細胞が産生するものまたはそれと同様の作用を有するものである。本明細書では、細胞生理活性物質はタンパク質形態または核酸形態あるいは他の形態であり得るが、実際に作用する時点においては、サイトカインは通常はタンパク質形態を意味する。

【0181】

本明細書において使用される「サイトカイン」は、当該分野において用いられる最も広義の意味と同様に定義され、細胞から産生され同じまたは異なる細胞に

作用する生理活性物質をいう。サイトカインは、一般にタンパク質またはポリペプチドであり、免疫応答の制御作用、内分泌系の調節、神経系の調節、抗腫瘍作用、抗ウイルス作用、細胞増殖の調節作用、細胞分化の調節作用などを有する。本明細書では、サイトカインはタンパク質形態または核酸形態あるいは他の形態であり得るが、実際に作用する時点においては、サイトカインは通常はタンパク質形態を意味する。

【0182】

本明細書において用いられる「増殖因子」または「細胞増殖因子」とは、本明細書では互換的に用いられ、細胞の増殖を促進または制御する物質をいう。増殖因子は、成長因子または発育因子ともいわれる。増殖因子は、細胞培養または組織培養において、培地に添加されて血清高分子物質の作用を代替し得る。多くの増殖因子は、細胞の増殖以外に、分化状態の制御因子としても機能することが判明している。

【0183】

サイトカインには、代表的には、インターロイキン類、ケモカイン類、コロニー刺激因子のような造血因子、腫瘍壊死因子、インターフェロン類が含まれる。増殖因子としては、SCFなどのほか、代表的には、血小板由来増殖因子(PDGF)、上皮増殖因子(EGF)、線維芽細胞増殖因子(FGF)、肝実質細胞増殖因子(HGF)、血管内皮増殖因子(VEGF)、カルジオトロフィンのような増殖活性を有するものが挙げられる。

【0184】

サイトカインおよび増殖因子などの細胞生理活性物質は一般に、機能重複現象(redundancy)があることから、他の名称および機能で知られるサイトカインまたは増殖因子であっても、本発明に使用される細胞生理活性物質の活性を有する限り、本発明において使用され得る。また、サイトカインまたは増殖因子は、本明細書における好ましい活性を有してさえいれば、本発明の好ましい実施形態において使用することができる。

【0185】

本発明では、どのような細胞生理活性物質も使用され得る。本発明の1つの好

ましい実施形態において、細胞生理活性物質として、造血活性、コロニー刺激活性または細胞増殖活性を有するサイトカインまたは増殖因子が使用される。造血活性またはコロニー刺激活性を有するサイトカインとしては、白血病阻害因子 (L I F)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (G M - C S F)、マクロファージコロニー刺激因子 (M - C S F)、顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F)、m u l t i - C S F (I L - 3)、エリスロポエチン (E P O)、c - k i t リガンド (S C F) などが挙げられる。細胞増殖活性を有する増殖因子としては、血小板由来増殖因子 (P D G F)、表皮増殖因子 (E G F)、線維芽細胞増殖因子 (F G F)、肝細胞増殖因子 (H G F)、血管内皮増殖因子 (V E G F) インシュリン様増殖因子 (I G F) などが挙げられる。本発明の 1 つの好ましい実施形態では、細胞増殖活性を有する細胞生理活性物質 (例えば、サイトカインまたは増殖因子) が使用され得る。好ましい実施形態では、そのような細胞生理活性物質は、S C F、T P O および F l t - 3 L を含む。

【0186】

サイトカインおよび増殖因子のような細胞生理活性物質はまた、そのレセプター (例えば、サイトカインレセプター) によって分類することもできる。サイトカインレセプターは、非キナーゼ型およびキナーゼ型に分類される。非キナーゼ型としては、G タンパク質結合型レセプター、N G F / T N F レセプターファミリー、I F N レセプターファミリー、サイトカインレセプタースーパーファミリーなどが挙げられる。キナーゼ型としては、増殖因子型レセプター (チロシンキナーゼ型、例えば、H G F の場合は c - m e t)、T G F β レセプターファミリー (セリン・スレオニンキナーゼ型) などが挙げられる。細胞生理活性物質は、場合により、レセプターサブユニットを共有することから、上記好ましいサイトカインまたは増殖因子とレセプターサブユニットを共有するサイトカインまたは増殖因子もまた、好ましいサイトカイン及び増殖因子であり得る。

【0187】

サイトカインおよび増殖因子のような細胞生理活性物質はまた、タンパク質または核酸の形態で提供される場合、相同性比較により分類され得る。従って、本発明の好ましい実施形態として、本発明の好ましい細胞生理活性物質と相同性の

ある細胞生理活性物質が使用される。そのような相同性を有する細胞生理活性物質としては、例えば、BLASTのデフォルトパラメータを用いて比較した場合に、比較対照の細胞生理活性物質に対して、少なくとも約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%の相同性を有する細胞生理活性物質が挙げられる。

【0188】

本発明では、本発明の開示をもとに、コンピュータモデリングによる薬物が提供されることも企図される。

【0189】

本発明は、他の実施形態において、本発明の活性成分（例えば、ポリペプチドまたは核酸）と同等に有効な因子をスクリーニングするための道具として、コンピュータによる定量的構造活性相関（quantitative structure activity relationship=QSAR）モデル化技術を使用して得られる化合物もまた、本発明に包含される。ここで、コンピュータ技術は、いくつかのコンピュータによって作成した基質鑄型、ファーマコフォア、ならびに本発明の活性部位の相同モデルの作製などを包含する。一般に、インビトロで得られたデータから、ある物質に対する相互作用物質の通常の特性をモデル化することに対する方法は、最近CATALYSTTM ファーマコフォア法（Ekins et al., Pharmacogenetics, 9:477~489, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 288:21~29, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 290:429~438, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 291:424~433, 1999）および比較分子電界分析（comparative molecular field analysis; CoMFA）（Jones et al., Drug Metabolism & Disposition, 24:1~6, 1996）などを使用して示されている。本発明において、コンピュータモデリングは、分子モデ

ル化ソフトウェア（例えば、CATALYSTTMバージョン4 (Molecular Simulations, Inc., San Diego, CA) など）を使用して行われ得る。

【0190】

活性部位に対する化合物のフィッティングは、当該分野で公知の種々のコンピュータモデリング技術のいずれかを使用してで行うことができる。視覚による検査および活性部位に対する化合物のマニュアルによる操作は、QUANTA (Molecular Simulations, Burlington, MA, 1992)、SYBYL (Molecular Modeling Software, Tripos Associates, Inc., St. Louis, MO, 1992)、AMBER (Weiner et al., J. Am. Chem. Soc., 106:765-784, 1984)、CHARMM (Brooks et al., J. Comp. Chem., 4:187-217, 1983) などのようなプログラムを使用して行うことができる。これに加え、CHARMM、AMBERなどのような標準的な力場を使用してエネルギーの最小化を行うこともできる。他のさらに特殊化されたコンピュータモデリングは、GRID (Goodford et al., J. Med. Chem., 28:849-857, 1985)、MCSS (Miranker and Karplus, Function and Genetics, 11:29-34, 1991)、AUTODOCK (Goodsell and Olsen, Proteins: Structure, Function and Genetics, 8:195-202, 1990)、DOCK (Kuntz et al., J. Mol. Biol., 161:269-288, (1982)) などを含む。さらなる構造の化合物は、空白の活性部位、既知の低分子化合物における活性部位などに、LUDI (Bohm, J. Comp. Aid. Molec. Design, 6:61-78, 1992)、LEGEND (Nishibata and Itai, Tetrahedron, 47:8985, 1991)、LeapFrog (Tripos Associates, St. Louis, MO) などのようなコンピュータプログラムを使用して新規に構築することもできる

。このようなモデリングは、当該分野において周知慣用されており、当業者は、本明細書の開示に従って、適宜本発明の範囲に入る化合物を設計することができる。

【0191】

本発明において使用されるポリペプチド、核酸、医薬ならびにそのようなポリペプチドまたは核酸によって調製された分化細胞または分化細胞組成物は、生物への移入に適した形態であれば、任意の製剤形態で提供され得る。そのような製剤形態としては、例えば、液剤、注射剤、徐放剤が挙げられる。投与方法は、経口投与、非経口投与（例えば、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、皮内投与、粘膜投与、直腸内投与、腔内投与、患部への局所投与、皮膚投与など）、患部への直接投与などが挙げられる。そのような投与のための処方物は、任意の製剤形態で提供され得る。そのような製剤形態としては、例えば、液剤、注射剤、徐放剤が挙げられる。本発明の組成物および医薬は、全身投与されるとき、発熱物質を含まない、経口的に受容可能な水溶液の形態であり得る。そのような薬学的に受容可能なタンパク質溶液の調製は、pH、等張性、安定性などに相当な注意を払うことを条件として、当業者の技術範囲内である。

【0192】

本発明において医薬の処方のために使用される溶媒は、水性または非水性のいずれかの性質を有し得る。さらに、そのビヒクルは、処方物の、pH、容量オスモル濃度、粘性、明澄性、色、滅菌性、安定性、等張性、崩壊速度、または臭いを改変または維持するための他の処方物材料を含み得る。同様に、本発明の組成物は、有効成分の放出速度を改変または維持するため、または有効成分の吸収もしくは透過を促進するための他の処方物材料を含み得る。

【0193】

本発明は、医薬または医薬組成物として処方される場合、必要に応じて生理学的に受容可能なキャリア、賦型剤または安定化剤（Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990）と、所望の程度の純度を有する選択された組成物とを混合す

ることによって、凍結乾燥されたケーキまたは水溶液の形態で、保存のために調製され得る。

【0194】

そのような適切な薬学的に受容可能な因子としては、以下が挙げられるがそれらに限定されない：抗酸化剤、保存剤、着色料、風味料、および希釈剤、乳化剤、懸濁化剤、溶媒、フィラー、増量剤、緩衝剤、送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤および／または農学的もしくは薬学的アジュバント。代表的には、本発明の医薬は、本発明の活性成分（例えば、ポリペプチドまたは核酸など）を、1つ以上の生理的に受容可能なキャリア、賦形剤または希釈剤とともに組成物の形態で投与され得る。例えば、適切なビヒクルは、注射用水、生理的溶液、または人工脳脊髄液であり得、これらには、非経口送達のための組成物に一般的な他の物質を補充することが可能である。そのような受容可能なキャリア、賦形剤または安定化剤は、レシピエントに対して非毒性であり、そして好ましくは、使用される投薬量および濃度において不活性であり、そして以下が挙げられる：リン酸塩、クエン酸塩、または他の有機酸；抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸）；低分子量ポリペプチド；タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン）；親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）；アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン）；モノサッカリド、ジサッカリドおよび他の炭水化物（グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む）；キレート剤（例えば、EDTA）；糖アルコール（例えば、マンニトールまたはソルビトール）；塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）；ならびに／あるいは非イオン性表面活性剤（例えば、Tween、プルロニック（pluronic）またはポリエチレングリコール（PEG））。

【0195】

注射剤は当該分野において周知の方法により調製することができる。例えば、適切な溶剤（生理食塩水、PBSのような緩衝液、滅菌水など）に溶解した後、フィルターなどで濾過滅菌し、次いで無菌容器（例えば、アンプルなど）に充填することにより注射剤を調製することができる。この注射剤には、必要に応じて、慣用の薬学的キャリアを含めてもよい。非侵襲的なカテーテルを用いる投与方

法も使用され得る。例示の適切なキャリアとしては、中性緩衝化生理食塩水、または血清アルブミンと混合された生理食塩水が挙げられる。好ましくは、本発明の医薬は、適切な賦形剤（例えば、スクロース）を用いて凍結乾燥剤として処方される。他の標準的なキャリア、希釈剤および賦形剤は所望に応じて含まれ得る。他の例示的な組成物は、pH 7.0-8.5のTris緩衝剤またはpH 4.0-5.5の酢酸緩衝剤を含み、これらは、さらに、ソルビトールまたはその適切な代替物を含み得る。その溶液のpHはまた、種々のpHにおいて、本発明の活性成分（例えば、ポリペプチドまたは核酸など）の相対的溶解度に基づいて選択されるべきである。

【0196】

本発明の製剤の処方手順は、当該分野において公知であり、例えば、日本薬局方、米国薬局方、他の国の薬局方などに記載されている。従って、当業者は、本明細書の記載があれば、過度な実験を行うことなく、投与すべきポリペプチド量および細胞量を決定することができる。

【0197】

1つの実施形態において、本発明の組成物および医薬は、徐放性形態で提供され得る。徐放性形態で投与される場合、活性成分（例えば、核酸またはポリペプチド）は、徐々に放出されるので、長期にわたり薬効が期待される場合に有効である。徐放性形態の剤型は、本発明において使用され得る限り、当該分野で公知の任意の形態であり得る。そのような形態としては、例えば、ロッド状（ペレット状、シリンダー状、針状など）、錠剤形態、ディスク状、球状、シート状のような製剤であり得る。徐放性形態を調製する方法は、当該分野において公知であり、例えば、日本薬局方、米国薬局方および他の国の薬局方などに記載されている。徐放剤（持続性投与剤）を製造する方法としては、例えば、複合体から薬物の解離を利用する方法、水性懸濁注射液とする方法、油性注射液または油性懸濁注射液とする方法、乳濁製注射液（o/w型、w/o型の乳濁製注射液など）とする方法などが挙げられる。

【0198】

別の実施形態では、本発明では、さらに他の薬剤もまた投与することも企図さ

れる。そのような薬剤は、当該分野において公知の任意の医薬であり得、例えば、そのような薬剤は、薬学において公知の任意の薬剤（例えば、抗生物質など）であり得る。当然、そのような薬剤は、2種類以上の他の薬剤であり得る。そのような薬剤としては、例えば、日本薬局方最新版、米国薬局方最新版、他の国の薬局方の最新版において掲載されているものなどが挙げられる。

【0199】

他の実施形態において、本発明の方法によって調製された細胞は2種類以上の細胞を含み得る。2種類以上の細胞を使用する場合、類似の性質または由来の細胞を使用してもよく、異なる性質または由来の細胞を使用してもよい。

【0200】

本発明の方法において使用されるポリペプチド、核酸、組成物、医薬および細胞の量は、使用目的、対象物の年齢、サイズ、性別、既往歴、ポリペプチド、核酸、組成物、医薬もしくは細胞の形態または種類、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。

【0201】

本発明の組成物を対象物に対して与える頻度もまた、使用目的、対象物の年齢、サイズ、性別、既往歴、および処置経過などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。頻度としては、例えば、一日に1回～数回、毎日～数ヶ月に1回（例えば、1週間に1回～1ヶ月に1回）の投与が挙げられる。1週間～1ヶ月に1回の投与を、経過を見ながら施すことが好ましい。

【0202】

（好ましい実施形態の説明）

本発明は、幹細胞（例えば、造血幹細胞）の増幅（*expansion*）またはその多能性の維持のための組成物および方法を提供する。造血幹細胞のような幹細胞の多能性および自己複製能を天然に存在するよりも顕著に維持させることができる方法はこれまで知られておらず、当該分野において驚くべき効果を提供する。

【0203】

1つの局面において、本発明は、活性型STAT5を含む、幹細胞の増幅（*e*

x p a n s i o n) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物を提供する。好ましくは、この幹細胞は、造血幹細胞である。ここで、活性型 S T A T 5 は、活性型 S T A T 5 A であっても活性型 S T A T 5 B であってもよい。好ましくは、活性型 S T A T 5 は、配列番号 2, 4, 6 または 8 に記載の配列を含むポリペプチドまたはその改変体であって、少なくとも 1 つのセリン、スレオニンまたはチロシンがリン酸化されている。リン酸化されている部位は、好ましくは、チロシン残基であり、より好ましくは、C 末端側のチロシン残基（たとえば、配列番号 2 および 6 において 694 番目、配列番号 4 および 8 において 699 番目）であり得る。リン酸化されることが好ましい残基としては、例えば、配列番号 2 において、461 番目のスレオニン、694 番目のチロシン、726 番目のセリンならびにそれに対応するスレオニン、チロシン、セリンなどが挙げられるがそれらに限定されない。

【0204】

活性型 S T A T 5 は、

(a) 配列番号 2, 4, 6 または 8 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 2, 4, 6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 1, 3, 5 または 7 に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号 2, 4, 6 または 8 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチドであり得る。活性型 S T A T 5 は、二量体であり得る。そのような二量体は、ホモ二量体であってもヘテロ二量体であってもよい。ホモ二量体が好ましい。

【0205】

ある因子が活性型 S T A T 5 であるかどうかは、核内への移行能および／また

は S T A T 5 コンセンサス配列への結合能により判定できる。活性型 S T A T 5 を作製する方法は、当該分野において公知であり、例えば、そのような分子は、恒常的または一過的に活性型の S T A T 5 をコードする核酸分子を当該分野において周知の手段を用いて発現させることによって作製することができる。あるいは、不活性型の S T A T 5 を遺伝子操作によるかまたは天然のものから精製するか、あるいは有機合成によって作製し、J A K などのキナーゼ（好ましくは、J A K 1、J A K 2、J A K 3 のような S T A T 5 (S T A T 5 A、S T A T 5 B を含む) を特異的にリン酸化することが知られているもの) によってリン酸化することによって活性型の S T A T 5 を作製することができる。リン酸化された S T A T 5 は通常、二量体化され、活性化が維持される。

【0206】

好ましい実施形態において、本発明の活性型 S T A T 5 は、配列番号 2 または 6 における 298 番目のヒスチジン残基および／または 710 番目のセリン残基またはそれに対応する残基がそれぞれアルギニンおよび／またはフェニルアラニンに置換されたものであり得る。好ましくは、この 2 つの変異が両方とも導入されたものが使用され得る。

【0207】

ある実施形態において、本発明の活性型 S T A T 5 は恒常的に活性であるかまたは一過的に活性であり得る。恒常的または一過的の別は、当業者が状況に応じて適宜選択することができる。

【0208】

好ましくは、本発明の活性型 S T A T 5 は、そのアミノ酸配列において、配列番号 2、4、6 または 8 と少なくとも約 70% の相同性を有する。より好ましくは、本発明の活性型 S T A T 5 は、そのアミノ酸配列において、配列番号 2、4、6 または 8 と少なくとも約 80%、より好ましくは少なくとも約 85%、さらに好ましくは少なくとも約 90%、さらにより好ましくは少なくとも約 95%、なお好ましくは約 99% 相同性を有し得る。別の実施形態では、本発明の活性型 S T A T 5 は、そのアミノ酸配列において、配列番号 2 または配列番号 4 のヘリックスおよび／またはそれぞれの間のループを規定する配列と、少なくとも約 8

0%、より好ましくは少なくとも約85%、さらに好ましくは少なくとも約90%、さらにより好ましくは少なくとも約95%、なお好ましくは約99%相同性を有する配列を含む。最も好ましくは、本発明の活性型STAT5は、配列番号2、4、6、8または10に示す配列を有する。

【0209】

好ましい実施形態において、本発明は、さらなる生理活性物質を含み得る。そのような細胞生理活性物質としては、例えば、インターロイキン類、ケモカイン類、コロニー刺激因子のような造血因子、腫瘍壊死因子、インターフェロン類、血小板由来増殖因子(PDGF)、上皮増殖因子(EGF)、線維芽細胞増殖因子(FGF)、肝実質細胞増殖因子(HGF)、血管内皮増殖因子(VEGF)のような増殖活性を有するものが挙げられるがそれらに限定されない。ある実施形態において、そのような細胞生理活性物質は、SCF、TPOおよびFlt-3Lからなる群より選択されるものを使用することが好ましい。SCF、TPOおよびFlt-3Lは、未分化能を維持する際に効果があることが報告されているからである。好ましくは、このSCF、TPOおよびFlt-3Lはすべて使用され得る。

【0210】

本発明の組成物は、医薬組成物として使用することができる。その際は、薬学的に受容可能なキャリアを含ませることができる。

【0211】

別の局面において、本発明は、幹細胞の増幅またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物であって、STAT5および該STAT5の活性化因子を含む、組成物に関する。そのようなSTAT5は、

(a) 配列番号2、4、6または8に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；

(b) 配列番号2、4、6または8に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号1、3、5または7に記載の塩基配列の対立遺伝子変異体によ

ってコードされる、ポリペプチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または

(e) (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列を有するものであり得る。

【0212】

STAT5 の活性化因子は、当該分野において公知のものを使用することができるし、あるいは、天然に存在する STAT5 を活性化することができるものを新たに製造して用いてもよい。ある因子が STAT5 を活性化することができるかどうかは、例えば、ある STAT5 またはその改変体に、ある因子を作用させて、その STAT5 またはその改変体について、活性型 STAT5 についてのアッセイを行うことによって、STAT5 の活性化能を測定することができる。そのような STAT5 の活性化因子としては、例えば、JAK ファミリーから選択される因子（例えば、JAK1、JAK2、JAK3）またはその改変体であり得る。

【0213】

他の局面において、本発明は、活性型 STAT5 をコードする核酸分子を含む、幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物を提供する。本発明はまた、幹細胞の増幅 (expansion) またはその多能性もしくは自己複製能の維持のための組成物であって、STAT5 をコードする核酸分子および該 STAT5 の少なくとも 1 つのセリン、スレオニンまたはチロシンをリン酸化する因子を含む、組成物を提供する。好ましくは、そのような各核酸分子は、二量体を形成する STAT5 をコードする核酸配列を含み得る。

【0214】

1 つの実施形態において、前記活性型 STAT5 をコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 1、3、5 または 7 に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチ

ドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載の塩基配列からなる DNA の対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 2、4、6 または 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、
を含み得る。

【0215】

核酸分子の形態の場合、本発明の組成物は、そのままの形態でも、プラスミドなどのベクター（例えば、レトロウイルスベクター）に含まれる形態であってもよく、さらにリポソームなどの他のキャリアを含んでいてもよい。

【0216】

本発明で使用される活性型 S T A T 5 をコードする核酸分子は、核酸配列において、配列番号 1、3、5 または 7 と少なくとも 70 % の同一性を有する。より好ましくは、本発明の活性型 S T A T 5 をコードする核酸分子は、核酸配列において、配列番号 1、3、5 または 7 に示す配列と少なくとも約 80 %、より好ましくは少なくとも約 85 %、さらに好ましくは少なくとも約 90 %、さらにより好ましくは少なくとも約 95 %、なお好ましくは約 99 % 同一性を有し得る。別の実施形態では、本発明の活性型 S T A T 5 をコードする核酸分子は、核酸配列において、配列番号 1、3、5 または 7 に示す配列のヘリックスおよび／または

それぞれの間のループをコードする配列と、少なくとも約 80%、より好ましくは少なくとも約 85%、さらに好ましくは少なくとも約 90%、さらにより好ましくは少なくとも約 95%、なお好ましくは約 99% 相同性を有する配列を含む。最も好ましくは、本発明の活性型 STAT5 をコードする核酸分子は、配列番号 1、3、5、7 または 9 に示す配列を有する。

【0217】

このような核酸配列は、二量体を形成するような分子をコードするように改変されていてもよい。そのような配列としては、例えば、配列番号 9 に示す配列またはそこで改変されている（298 番目のヒスチジンがアルギニン、710 番目のセリンがフェニルアラニンに置換されている）ものに対応するアミノ酸が置換されているものが挙げられるがそれに限定されない。上述の 298 番目のヒスチジンおよび 710 番目のセリンが置換されるアミノ酸は、二量体の形成能が発揮される限りどのようなアミノ酸でもよい。したがって、当業者は、STAT5 の活性化能を見ながら、適宜適切な置換を設定することができる。別の局面において、本発明は、幹細胞を増幅またはその多能性の維持させるための方法を提供する。この方法は、A) 幹細胞を提供する工程；および B) この幹細胞に本発明の組成物を提供する工程、を包含する。

【0218】

好ましい実施形態において、上記幹細胞は、胚性幹細胞および組織幹細胞からなる群より選択される。より好ましくは、上記幹細胞は、造血幹細胞であり得る。

【0219】

好ましい実施形態において、本発明の方法は、さらなる細胞生理活性物質を投与する工程をさらに包含する。好ましい実施形態において、このさらなる細胞生理活性物質は、SCF、TPO および Flt-3L からなる群より選択される。

【0220】

1 つの実施形態において、本発明は、幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための方法を提供する。この方法は、A) 幹細胞を提供する工程；および B) 該幹細胞に、活性型 STAT5 を提供する工程、

を包含する。ここで、幹細胞は、好ましくは造血幹細胞であり得る。そのような活性型 S T A T 5 は、好ましい実施形態において、本明細書において記載される好ましい実施形態のものが使用され得る。

【0221】

1つの実施形態において、本発明は、幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための方法を提供する。この方法は、A) 幹細胞を提供する工程；B) 該幹細胞に、S T A T 5 を提供する工程；およびC) 該S T A T 5 を活性化する工程、を包含する。そのような活性化する因子は、J A Kファミリーから選択されるメンバーまたはその改変体であり得るが、それらに限定されない。そのような活性化因子は、本明細書の記載に基づいて、当業者が適宜選択することができる。上述のS T A T 5についても、本明細書において記載される形態のものが用いられ得る。

【0222】

1つの局面において、本発明では、幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、活性型S T A T 5の使用が提供される。そのような活性型S T A T 5は、本明細書において記載されるものが使用され得る。好ましくは、幹細胞は造血幹細胞であり得る。

【0223】

1つの局面において、本発明は、幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、S T A T 5の使用を提供する。そのような活性型S T A T 5は、本明細書において記載されるものが使用され得る。好ましくは、幹細胞は造血幹細胞であり得る。

【0224】

1つの局面において、本発明は、幹細胞を増幅またはその多能性もしくは自己複製能を維持するための、S T A T 5および該S T A T 5の活性化因子の使用を提供する。そのような活性化する因子は、J A Kファミリーから選択されるメンバーまたはその改変体であり得るが、それらに限定されない。そのような活性化因子は、本明細書の記載に基づいて、当業者が適宜選択することができる。

【0225】

別の局面において、本発明は、本発明の方法によって得られた細胞、その細胞から得られた組織および臓器に関する。

【0226】

本発明の好ましい局面において、本発明は、本発明の方法によって得られた細胞を含む医薬組成物を提供する。そのような医薬組成物には、必要に応じて、薬学的キャリアおよびさらなる薬効成分が含まれていてもよい。

【0227】

本発明の別の局面において、本発明は、幹細胞またはそれに由来する分化細胞を必要とする疾患または障害を処置または予防するための方法を提供する。この方法は、A) 本発明によって得られた細胞をそのような処置または予防を必要とする被検体に投与する工程、を包含する。

【0228】

本発明の別の局面において、本発明は、本発明によって得られた細胞の、幹細胞またはそれに由来する分化細胞を必要とする疾患または障害を処置または予防するための使用に関する。そのような細胞の使用技術は、当該分野において周知であり、当業者は、適宜選択することができる。

【0229】

別の局面において、本発明は、上記幹細胞を増幅およびその多能性もしくは自己複製能を維持するための方法によって調製された幹細胞を提供する。この方法は、インビボまたはインビトロで 사용할ことができる。本発明の方法によって調製された幹細胞は、一定の品質を確保することができ、大量に調製することも可能であるように、従来にない特徴を有することから、好ましい治療効果を有し得る。

【0230】

このように、本発明により幹細胞をより効率的に提供することができるようになった。従って、このような効果は、従来技術にはない格別な効果であるといえ、その有用性は筆舌に尽くしがたい。

【0231】

以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、以下の実施例は、例示の目的

のみに提供される。従って、本発明の範囲は、上記発明の詳細な説明にも下記実施例にも限定されるものではなく、特許請求の範囲によってのみ限定される。

【0232】

【実施例】

(実施例1:レトロウイルスベクターの調製)

本実施例では、活性型STAT5として、恒常的に二量体を形成することが知られる構造物を使用した。その構造物の構造を図2に示す。この構造物は、GCsam STAT ires EGFPと呼ばれる。ここで使用したSTAT5は、STAT5A1*6という改変体(核酸配列は配列番号9に示し、アミノ酸配列は配列番号10に示す)である。この改変体は、二量体を恒常的に形成し、常に活性型STAT5活性を示すという利点がある。

【0233】

GCsam-STAT5A 1*6-IRES-EGFP (STAT5A 1*6遺伝子をレトロウイルスベクターGCsam-IRES-EGFPに挿入したもの)またはVSV-g (vesicular stomatitis virus G protein) エンベロープ発現ベクターをパッケージング細胞である293gp細胞にトランスフェクトし、培養上清を回収した(図2を参照)。

【0234】

培養は、加湿した、37℃、10%CO₂存在下で10%ウシ胎児血清(FBS)を含むダルベッコ改変必須培地(DMEM)に、1×ペニシリン(100U/ml)、1×ストレプトマイシン(100μg/ml)中で行った。代表的には3日毎に、1/4~1/10量を継代培養した。

【0235】

293gp細胞のトランスフェクションは、代表的には、15cmのプレートに7×10⁶個の293gp細胞を播種した。播種の24時間後、リン酸カルシウム法を用いて、以下のようにトランスフェクションに使用した。

【0236】

100μlのDMEMを1.5mlのエッペンドルフチューブに分取した。D

NA溶液（ベクタープラスミド（GCsam STAT ires EGFP、図2、45 μ g）またはエンペローププラスミド（vsv-g、20 μ g））に、2.5M塩化カルシウム135 μ lを添加し、穏やかに混合し、2 \times BBS1.35 μ lを加えてDNA溶液を室温で20分間インキュベートした。この混合液を細胞培養培地に添加した。ウイルス産生細胞を、加湿した、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂存在下で16時間培養した。その後、新鮮な細胞培養培地に交換した。

【0237】

トランスフェクション（新鮮な細胞培養培地への交換）の48時間後、10mlのシリンジを使用して、上清を回収（15cmのプレートあたり15ml）し、0.45 μ mのメンブレン（HTuffryn、Pall Gelman Laboratory（Ann Arbor, MI, USA）を通して濾過し、ウイルス産生細胞および細胞の碎片を除去した。ウイルス上清は、あるいは、19,400rpmで2時間遠心分離することによって約100倍に濃縮した。濾過したウイルス調製物を、直接感染に使用するか、または-80 $^{\circ}$ Cで保存した。

【0238】

（実施例2：細胞の調製）

8-10週齢のC57BL/6 Ly5.1マウスの骨髓液を採取し、比重遠心分離により単核球を分離した（図3を参照）。単核球を各種の単クローン抗体で染色後（抗CD34、抗c-Kit、抗Sca-1、Lineage-marker mixture（CD4, CD8, B220, Gr-1, Mac-1, Ter119））、FACS Vantage細胞分取器（Becton Dickinson）を用いて CD34⁻/low c-kit⁺ Sca-1⁺ Lineage-marker⁻（CD34⁻KSL）の造血幹細胞分画を96マルチタイタープレートに100細胞/ウェルずつ選別した。培養液は無血清培地である X-vivo-10（BioWhittaker）を200 μ l/ウェルで用い、サイトカインとしては SCF（Stem cell factor）およびTPO（thrombopoietin）をそれぞれ100ng/mlで添加した（図3を参照）。

【0239】

(実施例3：ウイルスの感染)

実施例2で採取した造血幹細胞を24時間培養後、濃縮したウイルスをMOI (Multiplicity of infection) 600で加えた。この際、感染を補助するために、CH296 (レトロネクチン (登録商標) : 宝酒造) と protamine (Sigma) を1microgram/mlで加えた。ウイルスを加えて24時間後に細胞をX-vivo-10 5mlで洗浄後、SCF単独の培地あるいはSCF, TPO, Flt3L (Flt3 ligand) (100ng/ml) の培地に再浮遊させ、さらに7日から9日培養した。その結果を図4に示す。

【0240】

(実施例4：コロニーアッセイ)

ウイルス感染後、SCF単独培地あるいはSCF, TPO, Flt3L (Flt3 ligand) 培地で7日から9日培養後、その一部の細胞をメチルセルロース培地 (MethoCult: Stem Cell Technologies, Inc) に浮遊させ10日培養した (図5)。この際サイトカインはSCF (20ng/ml), TPO (100ng/ml), IL-3 (インターロイキン-3, 20ng/ml), Epo (エリスロポイエチン5ユニット/ml) であった。10日後に形成されたコロニーの数と種類を評価した (図5)。

【0241】

結果を図6に示す。図6に示すように、コントロールとして用いたGFPもSTAT3 (図2の構造) も、多能性維持機能は有しなかったが、活性型STAT5は、顕著に多能性を維持し、かつ、自己複製能を維持していることが判明した。図7には、この結果を棒グラフとしたものを示す。図7からも明らかなように活性型STAT5の顕著な効果が示された。

【0242】

このように活性型STAT5が多能性を維持し、かつ、自己複製能を維持させる機能を有する、すなわち幹細胞を増幅させる機能が判明したことは、従来わかっていなかった結果であり、特に活性型STAT3には効果がなく活性型STAT5のみに効果があったことは驚くべき効果であるといえる。

【0243】

(実施例5：骨髓移植)

ウイルス感染後、SCF単独培地あるいはSCF、TPO、Flt3L (Flt3 ligand) 培地で7日から9日培養後、細胞を5等分してそれぞれC57BL/6 Ly5. 2マウス骨髓細胞 2×10^5 と混ぜた。致死量の放射線を照射されたC57BL/6 Ly5. 2マウスに細胞を尾静脈から注入した。細胞を移植後定期的に末梢血を採取し、移植した細胞の末梢血におけるキメリズムをFlow cytometerを用いて観察した(図8を参照)。遺伝子導入細胞はGFPを発現しているため、GFP陽性細胞を定量することにより、STAT5導入細胞の骨髓移植後の骨髓再構築における寄与の割合を評価することができた。その結果を、図9に示す。図9に示すように、活性型STAT5に加えてSCF、TPOおよびFlt-3Lを加えることによって、造血幹細胞活性を顕著に確保することが示された。なお、活性型STAT5単独でも、幹細胞の活性を維持することができるが、その効果は弱い。したがって、細胞生理活性物質をさらに加えることが好ましいことがわかった。

【0244】

(実施例6：タンパク質の直接導入)

上述の遺伝子を用いる形態に代えて、活性型STAT5を直接使用して、幹細胞の能力を保持することができるかどうかを調べた。

【0245】

活性型STAT5は、上述のSTAT5A1*6を用いた。この遺伝子産物を当該分野において周知の方法を用いて、調製した。

【0246】

調製したSTAT5A1*6の活性は、STAT5結合塩基配列として用いられているプロラクチン応答性エレメント(PRE)を含む塩基配列(5'-GATCCGAATTCCAGGAATTCAGATC-3') (配列番号11)を含む2本鎖オリゴヌクレオチドを用いたゲルシフトアッセイで調べた。調製したタンパク質溶液と、この塩基配列を含む核酸分子とを反応させ、ポリアクリルアミドゲルで電気泳動および分離後、その因子または因子の遺伝子産物と、コンセ

ンサス配列を含む核酸分子との複合体の形成を同定することによって判定したところ、活性型 S T A T 5 の活性を保持していることが判明した。

【0247】

この活性型 S T A T 5 を用いてコロニーアッセイおよび骨髄移植アッセイをしたところ、効果は弱いものの、同様の効果が得られたことが示された。

【0248】

(実施例 7: 他の S T A T 5 による効果)

上述の活性型 S T A T 5 A の代わりに、活性型 S T A T 5 B およびヒトのものを使用して、上述の実施例 1 ~ 5 と同じ実験を行った。すると、その結果、同じように、活性型 S T A T 5 が未分化性を維持させ、自己複製能を維持させる結果を示すことがわかった。したがって、活性型 S T A T 5 は、活性型 S T A T 5 としての能力が保たれる限り（特に下流シグナルの伝達）、本発明がもたらす効果を奏することが判明した。

【0249】

以上のように、本発明の好ましい実施形態を用いて本発明を例示してきたが、本発明は、特許請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。

【0250】

【発明の効果】

幹細胞（例えば、造血幹細胞）の増幅（*expansion*）またはその多能性もしくは自己複製能の維持する組成物が提供された。

【0251】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Trans-Science, Inc.

<120> Expansion factor of stem cells

<130> J1-02519517

<140> none

<141> 2002-11-08

<160> 11

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 2385

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2385)

<223>

<400> 1

atg gcgggc tgg atc cag gcc cag cag ctg cag gga gac gcg ctgcgc 48

Met AlaGly Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala LeuArg

1

5

10

15

cag atgcag gtg ctg tac ggc cag cac ttc ccc atc gag gtc cggcac 96

Gln MetGln Val Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val ArgHis

20

25

30

tac ttggcc cag tgg att gag agc cag cca tgg gat gcc att gacttg 144

Tyr LeuAla Gln Trp Ile Glu Ser Gln Pro Trp Asp Ala Ile AspLeu

35

40

45

gac aatccc cag gac aga gcc caa gcc acc cag ctc ctg gag ggcctg 192

Asp AsnPro Gln Asp Arg Ala Gln Ala Thr Gln Leu Leu Glu GlyLeu

50

55

60

gtg caggag ctg cag aag aag gcg gag cac cag gtg ggg gaa gatggg 240

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu AspGly

65

70

75

80

ttt ttactg aag atc aag ctg ggg cac tac gcc acg cag ctc cagaaa 288

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu GlnLys

85

90

95

aca tatgac cgc tgc ccc ctg gag ctg gtc cgc tgc atc cgg cac att 336

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Leu Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg HisIle

100

105

110

ctg tacaat gaa cag agg ctg gtc cga gaa gcc aac aat tgc agctct 384

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Cys SerSer

115

120

125

ccg gctggg atc ctg gtt gac gcc atg tcc cag aag cac ctt cagatc 432

Pro AlaGly Ile Leu Val Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu Gln Ile

130

135

140

aac cagaca ttt gag gag ctg cga ctg gtc acg cag gac aca gagaat 480
Asn GlnThr Phe Glu Glu Leu Arg Leu Val Thr Gln Asp Thr GluAsn
145 150 155 160

gag ctgaag aaa ctg cag cag act cag gag tac ttc atc atc cagtac 528
Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile GlnTyr
165 170 175

cag gagagc ctg agg atc caa gct cag ttt gcc cag ctg gcc cagctg 576
Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Ala GlnLeu
180 185 190

agc cccag gag cgt ctg agc cgg gag acg gcc ctc cag cag aagcag 624
Ser ProGln Glu Arg Leu Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln LysGln
195 200 205

gtg tctctg gag gcc tgg ttg cag cgt gag gca cag aca ctg cag cag 672
Val SerLeu Glu Ala Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu GlnGln
210 215 220

tac cgctg gag ctg gcc gag aag cac cag aag acc ctg cag ctgctg 720
Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln LeuLeu
225 230 235 240

cgg aagcag cag acc atc atc ctg gat gac gag ctg atc cag tggaag 768
Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln Trp Lys
245 250 255

cgg cggcag cag ctg gcc ggg aac ggc ggg ccc ccc gag ggc agcctg 816

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly SerLeu
260 265 270

gac gtgcta cag tcc tgg tgt gag aag ttg gcc gag atc atc tggcag 864
Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile TrpGln
275 280 285

aac cggcag cag atc cgc agg gct gag cac ctc tgc cag cag ctgccc 912
Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln LeuPro
290 295 300

atc cccggc cca gtg gag gag atg ctg gcc gag gtc aac gcc accatc 960
Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala ThrIle
305 310 315 320

acg gacatt atc tca gcc ctg gtg acc agc aca ttc atc att gag aag 1008
Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile GluLys
325 330 335

cag cctcct cag gtc ctg aag acc cag acc aag ttt gca gcc acc gta 1056
Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala ThrVal
340 345 350

cgc ctgctg gtg ggc ggg aag ctg aac gtg cac atg aat ccc ccc cag 1104
Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro ProGln
355 360 365

gtg aaggcc acc atc atc agt gag cag cag gcc aag tct ctg ctt aaa 1152
Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu LeuLys

370

375

380

aat gagaac acc cgc aac gag tgc agt ggt gag atc ctg aac aac tgc 1200

Asn GluAsn Thr Arg Asn Glu Cys Ser Gly Glu Ile Leu Asn AsnCys

385

390

395

400

tgc gtgatg gag tac cac caa gcc acg ggc acc ctc agt gcc cac ttc 1248

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala HisPhe

405

410

415

agg aacatg tca ctg aag agg atc aag cgt gct gac cgg cgg ggt gca 1296

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ala Asp Arg Arg GlyAla

420

425

430

gag tccgtg aca gag gag aag ttc aca gtc ctg ttt gag tct cag ttc 1344

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Val Leu Phe Glu Ser GlnPhe

435

440

445

agt gttggc agc aat gag ctt gtg ttc cag gtg aag act ctg tcc cta 1392

Ser ValGly Ser Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu SerLeu

450

455

460

cct gtggtt gtc atc gtc cac ggc agc cag gac cac aat gcc acg gct 1440

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp His Asn Ala ThrAla

465

470

475

480

act gtgctg tgg gac aat gcc ttt gct gag ccg ggc agg gtg cca ttt 1488

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val ProPhe

485

490

495

gcc gtgcct gac aaa gtg ctg tgg ccg cag ctg tgt gag gcg ctc aac 1536

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala LeuAsn

500

505

510

atg aaattc aag gcc gaa gtg cag agc aac cgg ggc ctg acc aag gag 1584

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr LysGlu

515

520

525

aac ctcgtg ttc ctg gcg cag aaa ctg ttc aac aac agc agc agc cac 1632

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Asn Ser Ser SerHis

530

535

540

ctg gaggac tac agt ggc ctg tcc gtg tcc tgg tcc cag ttc aac agg 1680

Leu GluAsp Tyr Ser Gly Leu Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe AsnArg

545

550

555

560

gag aacttg ccg ggc tgg aac tac acc ttc tgg cag tgg ttt gac ggg 1728

Glu AsnLeu Pro Gly Trp Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe AspGly

565

570

575

gtg atggag gtg ttg aag aag cac cac aag ccc cac tgg aat gat ggg 1776

Val MetGlu Val Leu Lys Lys His His Lys Pro His Trp Asn AspGly

580

585

590

gcc atccta ggt ttt gtg aat aag caa cag gcc cac gac ctg ctc atc 1824

Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu LeuIle

595

600

605

aac aagccc gac ggg acc ttc ttg ttg cgc ttt agt gac tca gaa atc 1872

Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser GluIle

610

615

620

ggg ggcatac acc atc gcc tgg aag ttt gac tcc ccg gaa cgc aac ctg 1920

Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Pro Glu Arg AsnLeu

625

630

635

640

tgg aacctg aaa cca ttc acc acg cgg gat ttc tcc atc agg tcc ctg 1968

Trp AsnLeu Lys Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg SerLeu

645

650

655

gct gaccgg ctg ggg gac ctg agc tat ctc atc tat gtg ttt cct gac 2016

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Ser Tyr Leu Ile Tyr Val Phe ProAsp

660

665

670

cgc cccaag gat gag gtc ttc tcc aag tac tac act cct gtg ctg gct 2064

Arg Pro LysAsp Glu Val Phe Ser Lys Tyr Tyr Thr Pro Val LeuAla

675

680

685

aaa gctgtt gat gga tat gtg aaa cca cag atc aag caa gtg gtc cct 2112

Lys AlaVal Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile Lys Gln Val ValPro

690

695

700

gag tttgtg aat gca tct gca gat gct ggg ggc agc agc gcc acg tac 2160

Glu PheVal Asn Ala Ser Ala Asp Ala Gly Gly Ser Ser Ala ThrTyr

705

710

715

720

atg gaccag gcc ccc tcc cca gct gtg tgc ccc cag gct ccc tat aac 2208

Met AspGln Ala Pro Ser Pro Ala Val Cys Pro Gln Ala Pro TyrAsn

725

730

735

atg taccca cag aac cct gac cat gta ctc gat cag gat gga gaa ttc 2256

Met TyrPro Gln Asn Pro Asp His Val Leu Asp Gln Asp Gly GluPhe

740

745

750

gac ctggat gag acc atg gat gtg gcc agg cac gtg gag gaa ctc tta 2304

Asp LeuAsp Glu Thr Met Asp Val Ala Arg His Val Glu Glu LeuLeu

755

760

765

cgc cgacca atg gac agt ctt gac tcc cgc ctc tcg ccc cct gcc ggt 2352

Arg ArgPro Met Asp Ser Leu Asp Ser Arg Leu Ser Pro Pro AlaGly

770

775

780

ctt ttcacc tct gcc aga ggc tcc ctc tcatga 2385

Leu PheThr Ser Ala Arg Gly Ser LeuSer

785

790

<210> 2

<211> 794

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met AlaGly Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala Leu Arg

1

5

10

15

Gln MetGln Val Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val Arg His

20

25

30

Tyr LeuAla Gln Trp Ile Glu Ser Gln Pro Trp Asp Ala Ile Asp Leu

35

40

45

Asp AsnPro Gln Asp Arg Ala Gln Ala Thr Gln Leu Leu Glu Gly Leu

50

55

60

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu Asp Gly

65

70

75

80

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu Gln Lys

85

90

95

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Leu Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg His Ile

100

105

110

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Cys Ser Ser

115

120

125

Pro AlaGly Ile Leu Val Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu Gln Ile

130

135

140

Asn GlnThr Phe Glu Glu Leu Arg Leu Val Thr Gln Asp Thr Glu Asn

145

150

155

160

Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile Gln Tyr

165

170

175

Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Ala Gln Leu

180

185

190

Ser ProGln Glu Arg Leu Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln Lys Gln

195

200

205

Val SerLeu Glu Ala Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu Gln Gln

210

215

220

Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln Leu Leu

225

230

235

240

Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln Trp Lys

245

250

255

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly Ser Leu

260

265

270

Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile Trp Gln

275

280

285

Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln Leu Pro

290

295

300

Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala Thr Ile

305

310

315

320

Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile Glu Lys

325

330

335

Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala Thr Val

340

345

350

Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro Pro Gln
355 360 365

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu Leu Lys
370 375 380

Asn GluAsn Thr Arg Asn Glu Cys Ser Gly Glu Ile Leu Asn Asn Cys
385 390 395 400

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala His Phe
405 410 415

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ala Asp Arg Arg Gly Ala
420 425 430

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Val Leu Phe Glu Ser Gln Phe
435 440 445

Ser ValGly Ser Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu Ser Leu
450 455 460

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp His Asn Ala Thr Ala

465

470

475

480

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val Pro Phe

485

490

495

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala Leu Asn

500

505

510

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr Lys Glu

515

520

525

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Asn Ser Ser Ser His

530

535

540

Leu GluAsp Tyr Ser Gly Leu Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe Asn Arg

545

550

555

560

Glu AsnLeu Pro Gly Trp Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe Asp Gly

565

570

575

Val MetGlu Val Leu Lys Lys His His Lys Pro His Trp Asn Asp Gly

580

585

590

Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu Leu Ile

595

600

605

Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser Glu Ile

610

615

620

Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Pro Glu Arg Asn Leu

625

630

635

640

Trp AsnLeu Lys Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg Ser Leu

645

650

655

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Ser Tyr Leu Ile Tyr Val Phe Pro Asp

660

665

670

Arg ProLys Asp Glu Val Phe Ser Lys Tyr Tyr Thr Pro Val Leu Ala

675

680

685

Lys AlaVal Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile Lys Gln Val Val Pro

690

695

700

Glu PheVal Asn Ala Ser Ala Asp Ala Gly Gly Ser Ser Ala Thr Tyr

705

710

715

720

Met AspGln Ala Pro Ser Pro Ala Val Cys Pro Gln Ala Pro Tyr Asn

725

730

735

Met TyrPro Gln Asn Pro Asp His Val Leu Asp Gln Asp Gly Glu Phe

740

745

750

Asp LeuAsp Glu Thr Met Asp Val Ala Arg His Val Glu Glu Leu Leu

755

760

765

Arg ArgPro Met Asp Ser Leu Asp Ser Arg Leu Ser Pro Pro Ala Gly

770

775

780

Leu PheThr Ser Ala Arg Gly Ser Leu Ser

785

790

<210> 3

<211> 2364

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2364)

<223>

<400> 3

atg gctgtg tgg ata caa gct cag cag ctc caa gga gaa gcc cttcat	48
Met AlaVal Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Glu Ala LeuHis	
1 5 10 15	
cag atgcaa gcg tta tat ggc cag cat ttt ccc att gag gtg cggcat	96
Gln Met GlnAla Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val ArgHis	
20 25 30	
tat ttatcc cag tgg att gaa agc caa gca tgg gac tca gta gatctt	144
Tyr LeuSer Gln Trp Ile Glu Ser Gln Ala Trp Asp Ser Val AspLeu	
35 40 45	
gat aatcca cag gag aac att aag gcc acc cag ctc ctg gag ggcctg	192
Asp AsnPro Gln Glu Asn Ile Lys Ala Thr Gln Leu Leu Glu GlyLeu	
50 55 60	
gtg caggag ctg cag aag aag gca gag cac cag gtg ggg gaa gatggg	240
Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu AspGly	
65 70 75 80	

ttt ttactg aag atc aag ctg ggg cac tat gcc aca cag ctc cagaac 288
Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu GlnAsn
85 90 95

acg tatgac cgc tgc ccc atg gag ctg gtc cgc tgc atc cgc catata 336
Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg HisIle
100 105 110

ttg tacaat gaa cag agg ttg gtc cga gaa gcc aac aat ggt agctct 384
Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Gly SerSer
115 120 125

cca gctgga agc ctt gct gat gcc atg tcc cag aaa cac ctc cagatc 432
Pro AlaGly Ser Leu Ala Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu GlnIle
130 135 140

aac cagacg ttt gag gag ctg cga ctg gtc acg cag gac aca gagaat 480
Asn GlnThr Phe Glu Glu Leu Arg Leu Val Thr Gln Asp Thr GluAsn
145 150 155 160

gag ttaaaa aag ctg cag cag act cag gag tac ttc atc atc cagtac 528
Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile GlnTyr
165 170 175

cag gagagc ctg agg atc caa gct cag ttt ggc ccg ctg gcc cagctg 576
Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Gly Pro Leu Ala GlnLeu
180 185 190

agc cccag gag cgt ctg agc cgg gag acg gcc ctc cag cag aagcag 624

Ser ProGln Glu Arg Leu Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln LysGln
 195 200 205

gtg tctctg gag gcc tgg ttg cag cgt gag gca cag aca ctg cagcag 672
 Val SerLeu Glu Ala Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu GlnGln
 210 215 220

tac cgcgtg gag ctg gcc gag aag cac cag aag acc ctg cag ctgctg 720
 Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln LeuLeu
 225 230 235 240

cgg aagcag cag acc atc atc ctg gat gac gag ctg atc cag tggaag 768
 Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln TrpLys
 245 250 255

cgg cggcag cag ctg gcc ggg aac ggc ggg ccc ccc gag ggc agcctg 816
 Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly SerLeu
 260 265 270

gac gtgcta cag tcc tgg tgt gag aag ttg gcc gag atc atc tggcag 864
 Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile TrpGln
 275 280 285

aac cggcag cag atc cgc agg gct gag cac ctc tgc cag cag ctgccc 912
 Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln LeuPro
 290 295 300

atc cccggc cca gtg gag gag atg ctg gcc gag gtc aac gcc accatc 960
 Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala ThrIle

305

310

315

320

acg gacatt atc tca gcc ctg gtg acc agc acg ttc atc att gag aag 1008

Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile GluLys

325

330

335

cag cctcct cag gtc ctg aag acc cag acc aag ttt gca gcc act gtg 1056

Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala ThrVal

340

345

350

cgc ctgctg gtg ggc ggg aag ctg aac gtg cac atg aac ccc ccc cag 1104

Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro ProGln

355

360

365

gtg aaggcc acc atc atc agt gag cag cag gcc aag tct ctg ctc aag 1152

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu LeuLys

370

375

380

aac gagaac acc cgc aat gat tac agt ggc gag atc ttg aac aac tgc 1200

Asn GluAsn Thr Arg Asn Asp Tyr Ser Gly Glu Ile Leu Asn AsnCys

385

390

395

400

tgc gtcattg gag tac cac caa gcc aca ggc acc ctt agt gcc cac ttc 1248

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala HisPhe

405

410

415

agg aatatg tcc ctg aaa cga att aag agg tca gac cgt cgt ggg gca 1296

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ser Asp Arg Arg GlyAla

420

425

430

gag tcggtg aca gaa gaa aaa ttt aca atc ctg ttt gaa tcc cag ttc 1344

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Ile Leu Phe Glu Ser GlnPhe

435

440

445

agt gttggt gga aat gag ctg gtt ttt caa gtc aag acc ctg tcc ctg 1392

Ser ValGly Gly Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu SerLeu

450

455

460

cca gtggtg gtg atc gtt cat ggc agc cag gac aac aat gcg acg gcc 1440

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp Asn Asn Ala ThrAla

465

470

475

480

act gttctc tgg gac aat gct ttt gca gag cct ggc agg gtg cca ttt 1488

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val ProPhe

485

490

495

gcc gtgcct gac aaa gtg ctg tgg cca cag ctg tgt gag gcg ctc aac 1536

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala LeuAsn

500

505

510

atg aaattc aag gcc gaa gtg cag agc aac cgg ggc ctg acc aag gag 1584

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr Lys Glu

515

520

525

aac ctggtg ttc ctg gcg cag aaa ctg ttc aac aac agc agc agc cac 1632

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Asn Ser Ser SerHis

530

535

540

ctg gaggac tac agt ggc ctg tct gtg tcc tgg tcc cag ttc aac agg 1680
Leu GluAsp Tyr Ser Gly Leu Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe AsnArg
545 550 555 560

gag aattta cca gga cgg aat tac act ttc tgg caa tgg ttt gac ggt 1728
Glu AsnLeu Pro Gly Arg Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe AspGly
565 570 575

gtg atggaa gtg tta aaa aaa cat ctc aag cct cat tgg aat gat ggg 1776
Val MetGlu Val Leu Lys Lys His Leu Lys Pro His Trp Asn AspGly
580 585 590

gcc attttg ggg ttt gta aac aag caa cag gcc cat gac cta ctc att 1824
Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu LeuIle
595 600 605

aac aagcca gat ggg acc ttc ctc ctg aga ttc agt gac tca gaa att 1872
Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser GluIle
610 615 620

ggc ggcatac acc att gct tgg aag ttt gat tct cag gaa aga atg ttt 1920
Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Gln Glu Arg Met Phe
625 630 635 640

tgg aatctg atg cct ttt acc acc aga gac ttc tcc att cgg tcc cta 1968
Trp AsnLeu Met Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg SerLeu
645 650 655

gcc gaccgc ttg gga gac ttg aat tac ctt atc tac gtg ttt cct gat 2016

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe ProAsp

660

665

670

cgg ccaaaa gat gaa gta tac tcc aaa tac tac aca cca gtt ccc tgc 2064

Arg ProLys Asp Glu Val Tyr Ser Lys Tyr Tyr Thr Pro Val ProCys

675

680

685

gag tctgct act gct aaa gct gtt gat gga tac gtg aag cca cag atc 2112

Glu SerAla Thr Ala Lys Ala Val Asp Gly Tyr Val Lys Pro GlnIle

690

695

700

aag caagtg gtc cct gag ttt gtg aac gca tct gca gat gcc ggg ggc 2160

Lys GlnVal Val Pro Glu Phe Val Asn Ala Ser Ala Asp Ala GlyGly

705

710

715

720

ggc agcgcc acg tac atg gac cag gcc ccc tcc cca gct gtg tgt ccc 2208

Gly SerAla Thr Tyr Met Asp Gln Ala Pro Ser Pro Ala Val CysPro

725

730

735

cag gctcac tat aac atg tac cca cag aac cct gac tca gtc ctt gac 2256

Gln AlaHis Tyr Asn Met Tyr Pro Gln Asn Pro Asp Ser Val LeuAsp

740

745

750

acc gatggg gac ttc gat ctg gag gac aca atg gac gta gcg cgg cgt 2304

Thr AspGly Asp Phe Asp Leu Glu Asp Thr Met Asp Val Ala ArgArg

755

760

765

gtg gaggag ctc ctg ggc cgg cca atg gac agt cag tgg atc ccg cac 2352

Val GluGlu Leu Leu Gly Arg Pro Met Asp Ser Gln Trp Ile ProHis

770

775

780

gca caatcgtga

2364

Ala GlnSer

785

<210> 4

<211> 787

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met AlaVal Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Glu Ala Leu His

1

5

10

15

Gln MetGln Ala Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val Arg His

20

25

30

Tyr LeuSer Gln Trp Ile Glu Ser Gln Ala Trp Asp Ser Val Asp Leu

35

40

45

Asp AsnPro Gln Glu Asn Ile Lys Ala Thr Gln Leu Leu Glu Gly Leu

50

55

60

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu Asp Gly
65 70 75 80

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu Gln Asn
85 90 95

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg His Ile
100 105 110

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Gly Ser Ser
115 120 125

Pro AlaGly Ser Leu Ala Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu Gln Ile
130 135 140

Asn GlnThr Phe Glu Glu Leu Arg Leu Val Thr Gln Asp Thr Glu Asn
145 150 155 160

Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile Gln Tyr
165 170 175

Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Gly Pro Leu Ala Gln Leu
180 185 190

Ser ProGln Glu Arg Leu Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln Lys Gln
195 200 205

Val SerLeu Glu Ala Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu Gln Gln
210 215 220

Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln Leu Leu
225 230 235 240

Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln Trp Lys
245 250 255

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly Ser Leu
260 265 270

Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile Trp Gln
275 280 285

Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln Leu Pro
290 295 300

Ile Pro GlyPro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala Thr Ile
305 310 315 320

Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile Glu Lys
325 330 335

Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala Thr Val
340 345 350

Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro Pro Gln
355 360 365

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu Leu Lys
370 375 380

Asn GluAsn Thr Arg Asn Asp Tyr Ser Gly Glu Ile Leu Asn Asn Cys
385 390 395 400

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala His Phe

405

410

415

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ser Asp Arg Arg Gly Ala

420

425

430

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Ile Leu Phe Glu Ser Gln Phe

435

440

445

Ser ValGly Gly Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu Ser Leu

450

455

460

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp Asn Asn Ala Thr Ala

465

470

475

480

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val Pro Phe

485

490

495

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala Leu Asn

500

505

510

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr Lys Glu

515

520

525

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Asn Ser Ser Ser His

530

535

540

Leu GluAsp Tyr Ser Gly Leu Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe Asn Arg

545

550

555

560

Glu AsnLeu Pro Gly Arg Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe Asp Gly

565

570

575

Val MetGlu Val Leu Lys Lys His Leu Lys Pro His Trp Asn Asp Gly

580

585

590

Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu Leu Ile

595

600

605

Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser Glu Ile

610

615

620

Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Gln Glu Arg Met Phe

625

630

635

640

Trp AsnLeu Met Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg Ser Leu

645

650

655

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe Pro Asp

660

665

670

Arg ProLys Asp Glu Val Tyr Ser Lys Tyr Tyr Thr Pro Val Pro Cys

675

680

685

Glu SerAla Thr Ala Lys Ala Val Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile

690

695

700

Lys GlnVal Val Pro Glu Phe Val Asn Ala Ser Ala Asp Ala Gly Gly

705

710

715

720

Gly SerAla Thr Tyr Met Asp Gln Ala Pro Ser Pro Ala Val Cys Pro

725

730

735

Gln AlaHis Tyr Asn Met Tyr Pro Gln Asn Pro Asp Ser Val Leu Asp

740

745

750

Thr AspGly Asp Phe Asp Leu Glu Asp Thr Met Asp Val Ala Arg Arg
 755 760 765

Val GluGlu Leu Leu Gly Arg Pro Met Asp Ser Gln Trp Ile Pro His
 770 775 780

Ala GlnSer
 785

<210> 5

<211> 2382

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2382)

<223>

<400> 5

atg gcg ggctgg att cag gcc cag cag ctt cag gga gat gcc ctgcgc 48
 Met AlaGly Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala LeuArg
 1 5 10 15

cag atgcaa gtg ttg tat ggg cag cat ttc ccc atc gag gtc cggcac 96
 Gln MetGln Val Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val ArgHis

20

25

30

tac ctggcc cag tgg atc gag agc cag ccg tgg gat gct att gacttg 144

Tyr Leu AlaGln Trp Ile Glu Ser Gln Pro Trp Asp Ala Ile AspLeu

35

40

45

gat aatccc cag gac cga ggt cag gcc acc caa ctc ctg gag ggcctg 192

Asp AsnPro Gln Asp Arg Gly Gln Ala Thr Gln Leu Leu Glu GlyLeu

50

55

60

gtg caggag ctg cag aag aag gcg gag cac cag gtg ggg gaa gatggg 240

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu AspGly

65

70

75

80

ttt ttgctg aag atc aag ctg ggg cac tat gcc aca cag ctc cagaac 288

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu GlnAsn

85

90

95

acg tatgac cgc tgt ccc atg gag ctg gtt cgc tgt atc cgt cacatt 336

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg HisIle

100

105

110

ctg tacaac gaa cag agg ctg gtt cgc gaa gcc aac aat tgc agctcc 384

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Cys SerSer

115

120

125

cct gctggg gtc ctg gtt gac gcc atg tcc cag aag cac ctt cagatc 432

Pro AlaGly Val Leu Val Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu GlnIle

130

135

140

aac caaagg ttt gag gag ctg cgc ctg atc aca cag gac acg gagaac	480
Asn GlnArg Phe Glu Glu Leu Arg Leu Ile Thr Gln Asp Thr GluAsn	
145 150 155 160	
gag ctgaag aag ctg cag cag acc caa gag tac ttc atc atc cagtac	528
Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile GlnTyr	
165 170 175	
cag gagagc ctg cgg atc caa gct cag ttt gcc cag ctg ggc cagctg	576
Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Gly GlnLeu	
180 185 190	
aac ccccag gag cgc atg agc agg gag acg gcc ctc cag cag aagcaa	624
Asn ProGln Glu Arg Met Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln LysGln	
195 200 205	
gtg tccctg gag acc tgg ctg cag cga gag gca cag aca ctg cagcag	672
Val SerLeu Glu Thr Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu GlnGln	
210 215 220	
tac cgagtg gag ctg gct gag aag cac cag aag acc ctg cag ctgctg	720
Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln LeuLeu	
225 230 235 240	
cgg aagcag cag acc atc atc ctg gac gac gag ctg atc cag tggaag	768
Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln TrpLys	
245 250 255	

cgg agacag cag ctg gcc ggg aac ggg ggt ccc ccc gag ggc agcctg 816
Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly SerLeu
260 265 270

gac gtgctg cag tcc tgg tgt gag aag ctg gcc gag atc atc tggcag 864
Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile TrpGln
275 280 285

aac cggcag cag atc cgc agg gct gag cac ctg tgc cag cag ctgccc 912
Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln LeuPro
290 295 300

atc ccaggc ccc gtg gag gag atg ctg gct gag gtc aac gcc accatc 960
Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala ThrIle
305 310 315 320

acg gacatc atc tca gct ctg gtc acc agc acg ttc atc atc gag aag 1008
Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile GluLys
325 330 335

cag cctcct cag gtc ctg aag acc cag acc aag ttt gcg gcc acc gtg 1056
Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala ThrVal
340 345 350

cgc ctgctg gtg ggg gga aag ctg aat gtg cac atg aac ccc ccg cag 1104
Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro ProGln
355 360 365

gtg aaggcg acc atc atc agc gag cag cag gcc aag tcc ctg ctc aag 1152

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu LeuLys

370

375

380

aat gagaac acc cgc aat gag tgc agc ggc gag atc ctg aac aac tgt 1200

Asn GluAsn Thr Arg Asn Glu Cys Ser Gly Glu Ile Leu Asn AsnCys

385

390

395

400

tgc gtcattg gag tac cac cag gcc act ggc acg ctc agc gcc cac ttc 1248

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala His Phe

405

410

415

aga aacatg tca ctg aaa aga atc aag cgc gcc gac agg cgt ggt gca 1296

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ala Asp Arg Arg GlyAla

420

425

430

gag tcggtg acg gag gag aag ttc aca gtc ctg ttt gag tct cag ttc 1344

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Val Leu Phe Glu Ser GlnPhe

435

440

445

agc gttggc agc aac gag ctg gtg ttc cag gtg aag acc ctg tcc ctc 1392

Ser ValGly Ser Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu SerLeu

450

455

460

cct gtggtc gtt atc gtc cat ggc agc cag gac cac aat gct act gcc 1440

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp His Asn Ala ThrAla

465

470

475

480

acc gtgctg tgg gac aat gcc ttt gct gag ccg ggc agg gtg cca ttt 1488

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val ProPhe

485

490

495

gct gtgcct gac aag gtg ctg tgg ccg cag ctg tgt gaa gcg ctc aac 1536

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala LeuAsn

500

505

510

atg aaattc aag gct gaa gta cag agc aac cgg ggc ttg acc aaa gag 1584

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr Lys Glu

515

520

525

aac ctgctg ttc ctg gca cag aaa ctg ttc aac atc agc agc aac cac 1632

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Ile Ser Ser AsnHis

530

535

540

ctc gaggac tac aac agc atg tct gtg tcc tgg tcc cag ttc aac cgg 1680

Leu GluAsp Tyr Asn Ser Met Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe AsnArg

545

550

555

560

gag aacttg ccc ggc tgg aac tac acc ttc tgg cag tgg ttc gac ggg 1728

Glu AsnLeu Pro Gly Trp Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe AspGly

565

570

575

gtg atggag gtg ctg aag aag cac cat aag ccc cat tgg aat gat ggg 1776

Val MetGlu Val Leu Lys Lys His His Lys Pro His Trp Asn AspGly

580

585

590

gct atcctg ggt ttc gtg aac aag caa cag gcc cac gac ctg ctc atc 1824

Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu LeuIle

595

600

605

aac aagccg gac ggg acc ttc ctg ctg cgc ttc agt gac tcg gaa atc 1872

Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser GluIle

610

615

620

ggg ggcatac acc att gct tgg aag ttt gac tct ccg gac cga aac ctc 1920

Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Pro Asp Arg Asn Leu

625

630

635

640

tgg aatctg aag cca ttc acg acg cga gat ttc tcc att cgg tcc ctg 1968

Trp AsnLeu Lys Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg SerLeu

645

650

655

gcc gaccgg ctg ggg gac ctg aac tac ctt atc tac gtg ttc cca gac 2016

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe ProAsp

660

665

670

cga cccaag gac gag gtc ttt gcc aag tat tac act cct gta ctt gcg 2064

Arg ProLys Asp Glu Val Phe Ala Lys Tyr Tyr Thr Pro Val LeuAla

675

680

685

aaa gcagtt gac gga tac gtg aag cca cag atc aag caa gtg gtc cct 2112

Lys AlaVal Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile Lys Gln Val ValPro

690

695

700

gag ttcgtc aat gca tcc aca gat gcc gga gcc agc gcc acc tac atg 2160

Glu PheVal Asn Ala Ser Thr Asp Ala Gly Ala Ser Ala Thr TyrMet

705

710

715

720

gac caggct cct tcc cca gtc gtg tgc cct caa cct cac tac aac atg 2208

Asp GlnAla Pro Ser Pro Val Val Cys Pro Gln Pro His Tyr AsnMet

725

730

735

tac ccaccc aac cct gac cct gtc ctt gac caa gat ggc gag ttt gac 2256

Tyr ProPro Asn Pro Asp Pro Val Leu Asp Gln Asp Gly Glu PheAsp

740

745

750

ctg gatgag agc atg gat gtt gcc agg cac gtg gaa gaa ctt tta cgc 2304

Leu AspGlu Ser Met Asp Val Ala Arg His Val Glu Glu Leu LeuArg

755

760

765

cgg cccatg gac agt ctc gac gcc cgc ctc tcc cca cct gct ggt ctc 2352

Arg ProMet Asp Ser Leu Asp Ala Arg Leu Ser Pro Pro Ala GlyLeu

770

775

780

ttc acctcc gct aga agc tcc ctg tcctga 2382

Phe ThrSer Ala Arg Ser Ser LeuSer

785

790

<210> 6

<211> 793

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Met AlaGly Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala Leu Arg

1 5 10 15

Gln MetGln Val Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val Arg His

20 25 30

Tyr LeuAla Gln Trp Ile Glu Ser Gln Pro Trp Asp Ala Ile Asp Leu

35 40 45

Asp AsnPro Gln Asp Arg Gly Gln Ala Thr Gln Leu Leu Glu Gly Leu

50 55 60

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu Asp Gly

65 70 75 80

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu Gln Asn

85 90 95

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg His Ile

100 105 110

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Cys Ser Ser

115 120 125

Pro AlaGly Val Leu Val Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu Gln Ile
130 135 140

Asn GlnArg Phe Glu Glu Leu Arg Leu Ile Thr Gln Asp Thr Glu Asn
145 150 155 160

Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile Gln Tyr
165 170 175

Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Gly Gln Leu
180 185 190

Asn ProGln Glu Arg Met Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln Lys Gln
195 200 205

Val SerLeu Glu Thr Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu Gln Gln
210 215 220

Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln Leu Leu
225 230 235 240

Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln Trp Lys

245

250

255

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly Ser Leu

260

265

270

Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile Trp Gln

275

280

285

Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln Leu Pro

290

295

300

Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala Thr Ile

305

310

315

320

Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile Glu Lys

325

330

335

Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala Thr Val

340

345

350

Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro Pro Gln

355

360

365

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu Leu Lys

370

375

380

Asn GluAsn Thr Arg Asn Glu Cys Ser Gly Glu Ile Leu Asn Asn Cys

385

390

395

400

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala His Phe

405

410

415

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ala Asp Arg Arg Gly Ala

420

425

430

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Val Leu Phe Glu Ser Gln Phe

435

440

445

Ser ValGly Ser Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu Ser Leu

450

455

460

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp His Asn Ala Thr Ala
465 470 475 480

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val Pro Phe
485 490 495

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala Leu Asn
500 505 510

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr Lys Glu
515 520 525

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Ile Ser Ser Asn His
530 535 540

Leu GluAsp Tyr Asn Ser Met Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe Asn Arg
545 550 555 560

Glu AsnLeu Pro Gly Trp Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe Asp Gly
565 570 575

Val MetGlu Val Leu Lys Lys His His Lys Pro His Trp Asn Asp Gly

580

585

590

Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu Leu Ile

595

600

605

Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser Glu Ile

610

615

620

Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Pro Asp Arg Asn Leu

625

630

635

640

Trp AsnLeu Lys Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg Ser Leu

645

650

655

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe Pro Asp

660

665

670

Arg ProLys Asp Glu Val Phe Ala Lys Tyr Tyr Thr Pro Val Leu Ala

675

680

685

Lys AlaVal Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile Lys Gln Val Val Pro

690

695

700

Glu PheVal Asn Ala Ser Thr Asp Ala Gly Ala Ser Ala Thr Tyr Met
705 710 715 720

Asp GlnAla Pro Ser Pro Val Val Cys Pro Gln Pro His Tyr Asn Met
725 730 735

Tyr ProPro Asn Pro Asp Pro Val Leu Asp Gln Asp Gly Glu Phe Asp
740 745 750

Leu AspGlu Ser Met Asp Val Ala Arg His Val Glu Glu Leu Leu Arg
755 760 765

Arg ProMet Asp Ser Leu Asp Ala Arg Leu Ser Pro Pro Ala Gly Leu
770 775 780

Phe ThrSer Ala Arg Ser Ser Leu Ser
785 790

<210> 7

<211> 2361

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2361)

<223>

<400> 7

atg gctatg tgg ata cag gct cag cag ctc cag ggc gat gcc cttcac 48

Met AlaMet Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala LeuHis

1 5 10 15

cag atgcag gcc ttg tac ggc cag cat ttc ccc atc gag gtg cgacat 96

Gln MetGln Ala Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val ArgHis

20 25 30

tat ttatca cag tgg atc gaa agc caa gcc tgg gac tca ata gatctt 144

Tyr LeuSer Gln Trp Ile Glu Ser Gln Ala Trp Asp Ser Ile AspLeu

35 40 45

gat aatcca cag gag aac att aag gcc acc cag ctc ctg gag ggc ctg 192

Asp AsnPro Gln Glu Asn Ile Lys Ala Thr Gln Leu Leu Glu GlyLeu

50 55 60

gtg caggag ctg cag aag aag gcg gag cac cag gtg ggg gaa gatggg 240

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu AspGly

65 70 75 80

ttt ttgctg aag atc aag ctg ggg cac tat gcc aca cag ctc cagagc 288

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu Gln Ser
 85 90 95

acg tacgac cgc tgc ccc atg gag ctg gtt cgc tgt atc cgg cacatt 336
 Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg HisIle
 100 105 110

ctg tacaac gaa cag agg ctg gtt cgc gaa gcc aac aac ggc agctct 384
 Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Gly SerSer
 115 120 125

cca gctgga agt ctt gct gac gcc atg tcc cag aag cac ctt cagatc 432
 Pro AlaGly Ser Leu Ala Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu GlnIle
 130 135 140

aac caaacg ttt gag gag ctg cgc ctg atc aca cag gac acg gagaac 480
 Asn GlnThr Phe Glu Glu Leu Arg Leu Ile Thr Gln Asp Thr GluAsn
 145 150 155 160

gag ctgaag aag ctg cag cag acc caa gag tac ttc atc atc cag tac 528
 Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile GlnTyr
 165 170 175

cag gagagc ctg cgg atc caa gct cag ttt gcc cag ctg gga cagctg 576
 Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Gly GlnLeu
 180 185 190

aac cccag gag cgc atg agc agg gag acg gcc ctc cag cag aagcaa 624
 Asn ProGln Glu Arg Met Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln Lys Gln

195

200

205

gtg tccctg gag acc tgg ctg cag cga gag gca cag aca ctg cagcag 672

Val SerLeu Glu Thr Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu GlnGln

210

215

220

tac cgagtg gag ctg gct gag aag cac cag aag acc ctg cag ctgctg 720

Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln LeuLeu

225

230

235

240

cgg aagcag cag acc atc atc ctg gac gac gag ctg atc cag tggaag 768

Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln TrpLys

245

250

255

cgg agacag cag ctg gcc ggg aac ggg ggt ccc ccc gag ggc agcctg 816

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly SerLeu

260

265

270

gac gtgctg cag tcc tgg tgt gag aag ctg gcc gag atc atc tggcag 864

Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile TrpGln

275

280

285

aat cggcag cag atc cgc agg gct gag cac ctg tgc cag cag ctgccc 912

Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln LeuPro

290

295

300

atc ccaggc ccc gtg gag gag atg ctg gct gag gtc aac gcc accatc 960

Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala ThrIle

305

310

315

320

acg gacatc atc tca gcc ctg gtc acc agc acg ttc atc atc gag aag 1008
Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile GluLys
325 330 335

cag cctcct cag gtc ctg aag acc cag acc aag ttt gcg gcc act gtg 1056
Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala ThrVal
340 345 350

cgc ctgctg gtg ggg ggg aag ctg aat gtg cac atg aac ccc ccg cag 1104
Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro ProGln
355 360 365

gtg aaggcg acc atc atc agc gag cag cag gcc aag tcc ctg ctc aag 1152
Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu LeuLys
370 375 380

aat gagaac acc cgc aat gat tac agc ggc gag atc ctg aac aac tgt 1200
Asn GluAsn Thr Arg Asn Asp Tyr Ser Gly Glu Ile Leu Asn AsnCys
385 390 395 400

tgc gtcatt gag tac cac cag gcc act ggc acg ctc agc gcc cac ttc 1248
Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala HisPhe
405 410 415

aga aacatg tcc ctg aaa cga atc aag aga tct gac cgc cgt ggt gca 1296
Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ser Asp Arg Arg GlyAla
420 425 430

gag tcagta acg gaa gag aag ttc acg atc ctg ttt gac tca cag ttc 1344
Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Ile Leu Phe Asp Ser GlnPhe
435 440 445

agc gtcggt gga aac gag ctg gtc ttt caa gtc aag acc ttg tcg ctc 1392
Ser ValGly Gly Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu SerLeu
450 455 460

ccg gtggtg gtg att gtt cac ggc agc cag gac aac aat gcc aca gcc 1440
Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp Asn Asn Ala ThrAla
465 470 475 480

act gtcctc tgg gac aac gcc ttt gca gag cct ggc agg gtg cca ttt 1488
Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val ProPhe
485 490 495

gcc gtgcct gac aag gtg ctg tgg ccg cag ctg tgt gaa gcg ctc aac 1536
Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala LeuAsn
500 505 510

atg aaattc aag gct gaa gta cag agc aac cgg ggc ttg acc aag gag 1584
Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr LysGlu
515 520 525

aac ctcgtg ttc ctg gca cag aaa ctg ttc aac atc agc agc aac cac 1632
Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Ile Ser Ser AsnHis
530 535 540

ctc gaggac tac aac agc atg tcc gtg tcc tgg tcc cag ttc aac cgg 1680

Leu GluAsp Tyr Asn Ser Met Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe AsnArg
 545 550 555 560

gag aatttg cca gga cgg aat tac act ttc tgg cag tgg ttt gat ggc 1728
 Glu AsnLeu Pro Gly Arg Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe AspGly
 565 570 575

gtg atggaa gta ttg aaa aaa cat ctc aag cct cac tgg aat gat ggg 1776
 Val MetGlu Val Leu Lys Lys His Leu Lys Pro His Trp Asn AspGly
 580 585 590

gct atc ctgggt ttc gtg aac aag caa cag gcc cac gac ctg ctc atc 1824
 Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu LeuIle
 595 600 605

aac aagccg gac ggg acc ttc ctg ctg cgc ttc agc gac tcg gaa atc 1872
 Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser GluIle
 610 615 620

ggg ggcatc acc att gct tgg aag ttt gac tct cag gag aga atg ttt 1920
 Gly Gly IleThr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Gln Glu Arg MetPhe
 625 630 635 640

tgg aatctg atg cct ttt acc act aga gac ttc tct atc cgg tcc ctc 1968
 Trp AsnLeu Met Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg SerLeu
 645 650 655

gct gaccgc ctg ggg gac ctg aat tac ctc ata tat gtg ttt cct gat 2016
 Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe ProAsp

660

665

670

cgg ccaaag gat gaa gta tat tct aag tac tac aca ccg gtc ccc tgt 2064

Arg ProLys Asp Glu Val Tyr Ser Lys Tyr Tyr Thr Pro Val ProCys

675

680

685

gag cccgca act gcg aaa gca gct gac gga tac gtg aag cca cag atc 2112

Glu ProAla Thr Ala Lys Ala Ala Asp Gly Tyr Val Lys Pro GlnIle

690

695

700

aag caggtg gtc ccc gag ttt gca aat gca tcc aca gat gct ggg agt 2160

Lys GlnVal Val Pro Glu Phe Ala Asn Ala Ser Thr Asp Ala GlySer

705

710

715

720

ggc gccacc tac atg gat cag gct cct tcc cca gtc gtg tgc cct cag 2208

Gly AlaThr Tyr Met Asp Gln Ala Pro Ser Pro Val Val Cys ProGln

725

730

735

gct cactac aac atg tac cca ccc aac ccg gac tcc gtc ctt gat acc 2256

Ala HisTyr Asn Met Tyr Pro Pro Asn Pro Asp Ser Val Leu AspThr

740

745

750

gat ggggac ttc gat ctg gaa gac acg atg gac gtg gcg cgg cgc gtg 2304

Asp GlyAsp Phe Asp Leu Glu Asp Thr Met Asp Val Ala Arg ArgVal

755

760

765

gaa gagctc tta ggc cgg ccc atg gac agt cag tgg atc cct cac gca 2352

Glu GluLeu Leu Gly Arg Pro Met Asp Ser Gln Trp Ile Pro HisAla

770

775

780

cag tcatga

2361

GlnSer

785

<210> 8

<211> 786

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Met AlaMet Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala Leu His

1

5

10

15

Gln MetGln Ala Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val Arg His

20

25

30

Tyr LeuSer Gln Trp Ile Glu Ser Gln Ala Trp Asp Ser Ile Asp Leu

35

40

45

Asp AsnPro Gln Glu Asn Ile Lys Ala Thr Gln Leu Leu Glu Gly Leu

50

55

60

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu Asp Gly

65

70

75

80

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu Gln Ser

85

90

95

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg His Ile

100

105

110

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Gly Ser Ser

115

120

125

Pro AlaGly Ser Leu Ala Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu Gln Ile

130

135

140

Asn GlnThr Phe Glu Glu Leu Arg Leu Ile Thr Gln Asp Thr Glu Asn

145

150

155

160

Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile Gln Tyr

165

170

175

Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Gly Gln Leu

180

185

190

Asn ProGln Glu Arg Met Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln Lys Gln

195

200

205

Val SerLeu Glu Thr Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu Gln Gln

210

215

220

Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln Leu Leu

225

230

235

240

Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln Trp Lys

245

250

255

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly Ser Leu

260

265

270

Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile Trp Gln

275

280

285

Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu His Leu Cys Gln Gln Leu Pro

290

295

300

Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala Thr Ile
305 310 315 320

Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile Glu Lys
325 330 335

Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala Thr Val
340 345 350

Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro Pro Gln
355 360 365

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu Leu Lys
370 375 380

Asn GluAsn Thr Arg Asn Asp Tyr Ser Gly Glu Ile Leu Asn Asn Cys
385 390 395 400

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala His Phe
405 410 415

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ser Asp Arg Arg Gly Ala
420 425 430

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Ile Leu Phe Asp Ser Gln Phe
435 440 445

Ser ValGly Gly Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu Ser Leu
450 455 460

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp Asn Asn Ala Thr Ala
465 470 475 480

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val Pro Phe
485 490 495

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala Leu Asn
500 505 510

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr Lys Glu
515 520 525

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Ile Ser Ser Asn His
530 535 540

Leu GluAsp Tyr Asn Ser Met Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe Asn Arg
545 550 555 560

Glu AsnLeu Pro Gly Arg Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe Asp Gly
565 570 575

Val MetGlu Val Leu Lys Lys His Leu Lys Pro His Trp Asn Asp Gly
580 585 590

Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu Leu Ile
595 600 605

Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser Glu Ile
610 615 620

Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Gln Glu Arg Met Phe
625 630 635 640

Trp AsnLeu Met Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg Ser Leu

645

650

655

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe Pro Asp

660

665

670

Arg ProLys Asp Glu Val Tyr Ser Lys Tyr Tyr Thr Pro Val Pro Cys

675

680

685

Glu ProAla Thr Ala Lys Ala Ala Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile

690

695

700

Lys GlnVal Val Pro Glu Phe Ala Asn Ala Ser Thr Asp Ala Gly Ser

705

710

715

720

Gly AlaThr Tyr Met Asp Gln Ala Pro Ser Pro Val Val Cys Pro Gln

725

730

735

Ala HisTyr Asn Met Tyr Pro Pro Asn Pro Asp Ser Val Leu Asp Thr

740

745

750

Asp GlyAsp Phe Asp Leu Glu Asp Thr Met Asp Val Ala Arg Arg Val

755

760

765

Glu GluLeu Leu Gly Arg Pro Met Asp Ser Gln Trp Ile Pro His Ala

770

775

780

Gln Ser

785

<210> 9

<211> 2382

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> activated STAT5A

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2382)

<223>

<400> 9

atg gcgggc tgg att cag gcc cag cag ctt cag gga gat gcc ctgcgc 48

Met AlaGly Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala LeuArg

1

5

10

15

cag atgcaa gtg ttg tat ggg cag cat ttc ccc atc gag gtc cggcac 96

Gln MetGln Val Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val ArgHis

20

25

30

tac ctggcc cag tgg atc gag agc cag ccg tgg gat gct att gacttg 144

Tyr LeuAla Gln Trp Ile Glu Ser Gln Pro Trp Asp Ala Ile AspLeu

35

40

45

gat aatccc cag gac cga ggt cag gcc acc caa ctc ctg gag ggcctg 192

Asp AsnPro Gln Asp Arg Gly Gln Ala Thr Gln Leu Leu Glu GlyLeu

50

55

60

gtg caggag ctg cag aag aag gcg gag cac cag gtg ggg gaa gatggg 240

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu AspGly

65

70

75

80

ttt ttgctg aag atc aag ctg ggg cac tat gcc aca cag ctc cagaac 288

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu GlnAsn

85

90

95

acg tatgac cgc tgt ccc atg gag ctg gtt cgc tgt atc cgt cacatt 336

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg HisIle

100

105

110

ctg tacaac gaa cag agg ctg gtt cgc gaa gcc aac aat tgc agctcc 384

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Cys SerSer

115

120

125

cct gctggt gtc ctg gtt gac gcc atg tcc cag aag cac ctt cagatc 432

Pro AlaGly Val Leu Val Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu GlnIle

130

135

140

aac caaagg ttt gag gag ctg cgc ctg atc aca cag gac acg gagaac 480

Asn GlnArg Phe Glu Glu Leu Arg Leu Ile Thr Gln Asp Thr GluAsn

145

150

155

160

gag ctgaag aag ctg cag cag acc caa gag tac ttc atc atc cagtac 528

Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile GlnTyr

165

170

175

cag gagagc ctg cgg atc caa gct cag ttt gcc cag ctg ggc cagctg 576

Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Gly GlnLeu

180

185

190

aac cccag gag cgc atg agc agg gag acg gcc ctc cag cag aagcaa 624

Asn ProGln Glu Arg Met Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln LysGln

195

200

205

gtg tccctg gag acc tgg ctg cag cga gag gca cag aca ctg cagcag 672

Val SerLeu Glu Thr Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu GlnGln

210

215

220

tac cgagtg gag ctg gct gag aag cac cag aag acc ctg cag ctgctg 720

Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln LeuLeu

225

230

235

240

cgg aagcag cag acc atc atc ctg gac gac gag ctg atc cag tggaag 768

Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln TrpLys

245

250

255

cgg agacag cag ctg gcc ggg aac ggg ggt ccc ccc gag ggc agcctg 816

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly SerLeu

260

265

270

gac gtgctg cag tcc tgg tgt gag aag ctg gcc gag atc atc tggcag 864

Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile TrpGln

275

280

285

aac cggcag cag atc cgc agg gct gag cgc ctg tgc cag cag ctgccc 912

Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu Arg Leu Cys Gln Gln LeuPro

290

295

300

atc ccaggc ccc gtg gag gag atg ctg gct gag gtc aac gcc accatc 960

Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala ThrIle

305

310

315

320

acg gacatc atc tca gct ctg gtc acc agc acg ttc atc atc gag aag 1008

Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile GluLys

325

330

335

cag cctcct cag gtc ctg aag acc cag acc aag ttt gcg gcc acc gtg 1056

Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala ThrVal

340

345

350

cgc ctgctg gtg ggg gga aag ctg aat gtg cac atg aac ccc ccg cag 1104

Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro ProGln

355

360

365

gtg aaggcg acc atc atc agc gag cag cag gcc aag tcc ctg ctc aag 1152

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu LeuLys

370

375

380

aat gagaac acc cgc aat gag tgc agc ggc gag atc ctg aac aac tgt 1200

Asn GluAsn Thr Arg Asn Glu Cys Ser Gly Glu Ile Leu Asn AsnCys

385

390

395

400

tgc gtcattg gag tac cac cag gcc act ggc acg ctc agc gcc cac ttc 1248

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala HisPhe

405

410

415

aga aacatg tca ctg aaa aga atc aag cgc gcc gac agg cgt ggt gca 1296

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ala Asp Arg Arg GlyAla

420

425

430

gag tcggtg acg gag gag aag ttc aca gtc ctg ttt gag tct cag ttc 1344

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Val Leu Phe Glu Ser Gln Phe

435

440

445

agc gttggc agc aac gag ctg gtg ttc cag gtg aag acc ctg tcc ctc 1392

Ser ValGly Ser Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu SerLeu

450

455

460

cct gtggtc gtt atc gtc cat ggc agc cag gac cac aat gct act gcc 1440

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp His Asn Ala ThrAla

465

470

475

480

acc gtgctg tgg gac aat gcc ttt gct gag ccg ggc agg gtg cca ttt 1488
Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val ProPhe
485 490 495

gct gtgcct gac aag gtg ctg tgg ccg cag ctg tgt gaa gcg ctc aac 1536
Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala LeuAsn
500 505 510

atg aaattc aag gct gaa gta cag agc aac cgg ggc ttg acc aaa gag 1584
Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr LysGlu
515 520 525

aac ctcgtg ttc ctg gca cag aaa ctg ttc aac atc agc agc aac cac 1632
Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Ile Ser Ser AsnHis
530 535 540

ctc gaggac tac aac agc atg tct gtg tcc tgg tcc cag ttc aac cgg 1680
Leu GluAsp Tyr Asn Ser Met Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe Asn Arg
545 550 555 560

gag aacttg ccc ggc tgg aac tac acc ttc tgg cag tgg ttc gac ggg 1728
Glu AsnLeu Pro Gly Trp Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe AspGly
565 570 575

gtg atggag gtg ctg aag aag cac cat aag ccc cat tgg aat gat ggg 1776
Val MetGlu Val Leu Lys Lys His His Lys Pro His Trp Asn AspGly
580 585 590

gct atcctg ggt ttc gtg aac aag caa cag gcc cac gac ctg ctc atc 1824
Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu LeuIle

595

600

605

aac aagccg gac ggg acc ttc ctg ctg cgc ttc agt gac tcg gaa atc 1872
Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser GluIle

610

615

620

ggg ggcatac acc att gct tgg aag ttt gac tct ccg gac cga aac ctc 1920
Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Pro Asp Arg AsnLeu

625

630

635

640

tgg aatctg aag cca ttc acg acg cga gat ttc tcc att cgg tcc ctg 1968
Trp AsnLeu Lys Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg SerLeu

645

650

655

gcc gaccgg ctg ggg gac ctg aac tac ctt atc tac gtg ttc cca gac 2016
Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe ProAsp

660

665

670

cga cccaag gac gag gtc ttt gcc aag tat tac act cct gta ctt gcg 2064
Arg ProLys Asp Glu Val Phe Ala Lys Tyr Tyr Thr Pro Val LeuAla

675

680

685

aaa gcagtt gac gga tac gtg aag cca cag atc aag caa gtg gtc cct 2112
Lys AlaVal Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile Lys Gln Val ValPro

690

695

700

gag ttcgtc aat gca ttc aca gat gcc gga gcc agc gcc acc tac atg 2160

Glu PheVal Asn Ala Phe Thr Asp Ala Gly Ala Ser Ala Thr TyrMet
705 710 715 720

gac caggct cct tcc cca gtc gtg tgc cct caa cct cac tac aac atg 2208
Asp GlnAla Pro Ser Pro Val Val Cys Pro Gln Pro His Tyr AsnMet
725 730 735

tac ccaccc aac cct gac cct gtc ctt gac caa gat ggc gag ttt gac 2256
Tyr ProPro Asn Pro Asp Pro Val Leu Asp Gln Asp Gly Glu PheAsp
740 745 750

ctg gatgag agc atg gat gtt gcc agg cac gtg gaa gaa ctt tta cgc 2304
Leu AspGlu Ser Met Asp Val Ala Arg His Val Glu Glu Leu LeuArg
755 760 765

cgg cccatg gac agt ctc gac gcc cgc ctc tcc cca cct gct ggt ctc 2352
Arg ProMet Asp Ser Leu Asp Ala Arg Leu Ser Pro Pro Ala GlyLeu
770 775 780

ttc acctcc gct aga agc tcc ctg tcctga 2382
Phe ThrSer Ala Arg Ser Ser LeuSer
785 790

<210> 10

<211> 793

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> activated STAT5A

<400> 10

Met AlaGly Trp Ile Gln Ala Gln Gln Leu Gln Gly Asp Ala Leu Arg
1 5 10 15

Gln MetGln Val Leu Tyr Gly Gln His Phe Pro Ile Glu Val Arg His
20 25 30

Tyr LeuAla Gln Trp Ile Glu Ser Gln Pro Trp Asp Ala Ile Asp Leu
35 40 45

Asp AsnPro Gln Asp Arg Gly Gln Ala Thr Gln Leu Leu Glu Gly Leu
50 55 60

Val GlnGlu Leu Gln Lys Lys Ala Glu His Gln Val Gly Glu Asp Gly

65 70 75 80

Phe LeuLeu Lys Ile Lys Leu Gly His Tyr Ala Thr Gln Leu Gln Asn
85 90 95

Thr TyrAsp Arg Cys Pro Met Glu Leu Val Arg Cys Ile Arg His Ile
100 105 110

Leu TyrAsn Glu Gln Arg Leu Val Arg Glu Ala Asn Asn Cys Ser Ser
115 120 125

Pro AlaGly Val Leu Val Asp Ala Met Ser Gln Lys His Leu Gln Ile
130 135 140

Asn GlnArg Phe Glu Glu Leu Arg Leu Ile Thr Gln Asp Thr Glu Asn
145 150 155 160

Glu LeuLys Lys Leu Gln Gln Thr Gln Glu Tyr Phe Ile Ile Gln Tyr
165 170 175

Gln GluSer Leu Arg Ile Gln Ala Gln Phe Ala Gln Leu Gly Gln Leu
180 185 190

Asn ProGln Glu Arg Met Ser Arg Glu Thr Ala Leu Gln Gln Lys Gln
195 200 205

Val SerLeu Glu Thr Trp Leu Gln Arg Glu Ala Gln Thr Leu Gln Gln
210 215 220

Tyr ArgVal Glu Leu Ala Glu Lys His Gln Lys Thr Leu Gln Leu Leu
225 230 235 240

Arg LysGln Gln Thr Ile Ile Leu Asp Asp Glu Leu Ile Gln Trp Lys
245 250 255

Arg ArgGln Gln Leu Ala Gly Asn Gly Gly Pro Pro Glu Gly Ser Leu
260 265 270

Asp ValLeu Gln Ser Trp Cys Glu Lys Leu Ala Glu Ile Ile Trp Gln
275 280 285

Asn ArgGln Gln Ile Arg Arg Ala Glu Arg Leu Cys Gln Gln Leu Pro
290 295 300

Ile ProGly Pro Val Glu Glu Met Leu Ala Glu Val Asn Ala Thr Ile
305 310 315 320

Thr AspIle Ile Ser Ala Leu Val Thr Ser Thr Phe Ile Ile Glu Lys

325

330

335

Gln ProPro Gln Val Leu Lys Thr Gln Thr Lys Phe Ala Ala Thr Val

340

345

350

Arg LeuLeu Val Gly Gly Lys Leu Asn Val His Met Asn Pro Pro Gln

355

360

365

Val LysAla Thr Ile Ile Ser Glu Gln Gln Ala Lys Ser Leu Leu Lys

370

375

380

Asn Glu AsnThr Arg Asn Glu Cys Ser Gly Glu Ile Leu Asn Asn Cys

385

390

395

400

Cys ValMet Glu Tyr His Gln Ala Thr Gly Thr Leu Ser Ala His Phe

405

410

415

Arg AsnMet Ser Leu Lys Arg Ile Lys Arg Ala Asp Arg Arg Gly Ala

420

425

430

Glu SerVal Thr Glu Glu Lys Phe Thr Val Leu Phe Glu Ser Gln Phe

435

440

445

Ser ValGly Ser Asn Glu Leu Val Phe Gln Val Lys Thr Leu Ser Leu

450

455

460

Pro ValVal Val Ile Val His Gly Ser Gln Asp His Asn Ala Thr Ala

465

470

475

480

Thr ValLeu Trp Asp Asn Ala Phe Ala Glu Pro Gly Arg Val Pro Phe

485

490

495

Ala ValPro Asp Lys Val Leu Trp Pro Gln Leu Cys Glu Ala Leu Asn

500

505

510

Met LysPhe Lys Ala Glu Val Gln Ser Asn Arg Gly Leu Thr Lys Glu

515

520

525

Asn LeuVal Phe Leu Ala Gln Lys Leu Phe Asn Ile Ser Ser Asn His

530

535

540

Leu GluAsp Tyr Asn Ser Met Ser Val Ser Trp Ser Gln Phe Asn Arg

545

550

555

560

Glu AsnLeu Pro Gly Trp Asn Tyr Thr Phe Trp Gln Trp Phe Asp Gly

565

570

575

Val MetGlu Val Leu Lys Lys His His Lys Pro His Trp Asn Asp Gly

580

585

590

Ala IleLeu Gly Phe Val Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu Leu Ile

595

600

605

Asn LysPro Asp Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser Glu Ile

610

615

620

Gly GlyIle Thr Ile Ala Trp Lys Phe Asp Ser Pro Asp Arg Asn Leu

625

630

635

640

Trp AsnLeu Lys Pro Phe Thr Thr Arg Asp Phe Ser Ile Arg Ser Leu

645

650

655

Ala AspArg Leu Gly Asp Leu Asn Tyr Leu Ile Tyr Val Phe Pro Asp

660

665

670

Arg ProLys Asp Glu Val Phe Ala Lys Tyr Tyr Thr Pro Val Leu Ala

675

680

685

Lys AlaVal Asp Gly Tyr Val Lys Pro Gln Ile Lys Gln Val Val Pro

690

695

700

Glu PheVal Asn Ala Phe Thr Asp Ala Gly Ala Ser Ala Thr Tyr Met

705

710

715

720

Asp GlnAla Pro Ser Pro Val Val Cys Pro Gln Pro His Tyr Asn Met

725

730

735

Tyr ProPro Asn Pro Asp Pro Val Leu Asp Gln Asp Gly Glu Phe Asp

740

745

750

Leu AspGlu Ser Met Asp Val Ala Arg His Val Glu Glu Leu Leu Arg

755

760

765

Arg ProMet Asp Ser Leu Asp Ala Arg Leu Ser Pro Pro Ala Gly Leu

770

775

780

Phe ThrSer Ala Arg Ser Ser Leu Ser

785

790

<210> 11

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> consensus

<400> 11

gatccgaatt ccaggaattcagatc

25

【図面の簡単な説明】

【図 1】

造血幹細胞における自己複製シグナルを例示する図である。

【図 2】

図 2 は、本発明において用いられる恒常性活性型 S T A T 5 の構造である。

【図 3】

図 3 は、本発明で用いたコロニーアッセイのプロトコールを例示する図である。

【図 4】

図 4 は、増殖曲線を示す図である。

【図 5】

図 5 は、本発明で用いた実験のタイムスケジュールを示す図である。

【図 6】

図 6 は、コロニーアッセイの結果を示す図である。

【図 7】

図 7 は、図 6 をグラフ化したものである。M I X は骨髓球、赤芽球、巨核球を含むコロニーを示し、G M / M は骨髓球のみを含むコロニーを示す。

【図 8】

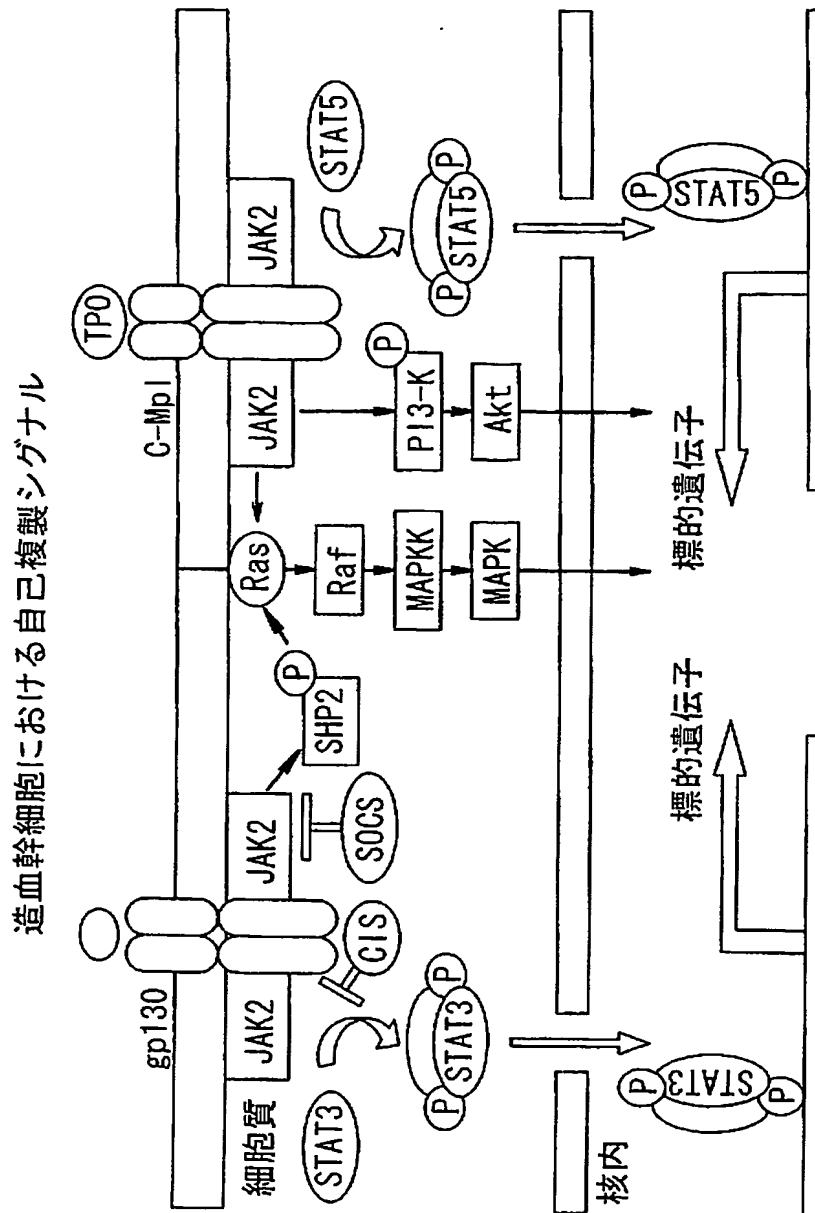
図 8 は、骨髓移植のタイムスケジュールを示す図である。

【図 9】

図 9 は、骨髓移植の実験結果を示す図である。

【書類名】 図面

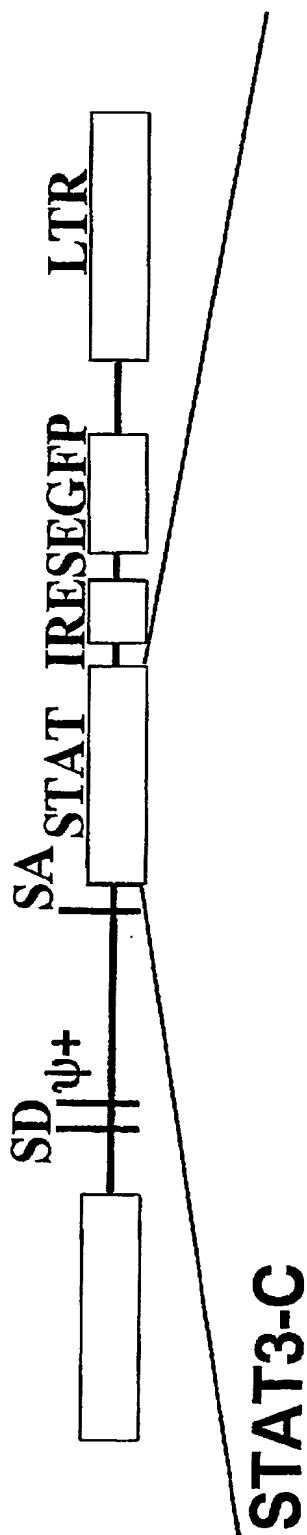
【図1】



【図 2】

活性型STAT

GCsam STAT ires EGFP



A $\xrightarrow{\quad}$ C661
N $\xrightarrow{\quad}$ C663

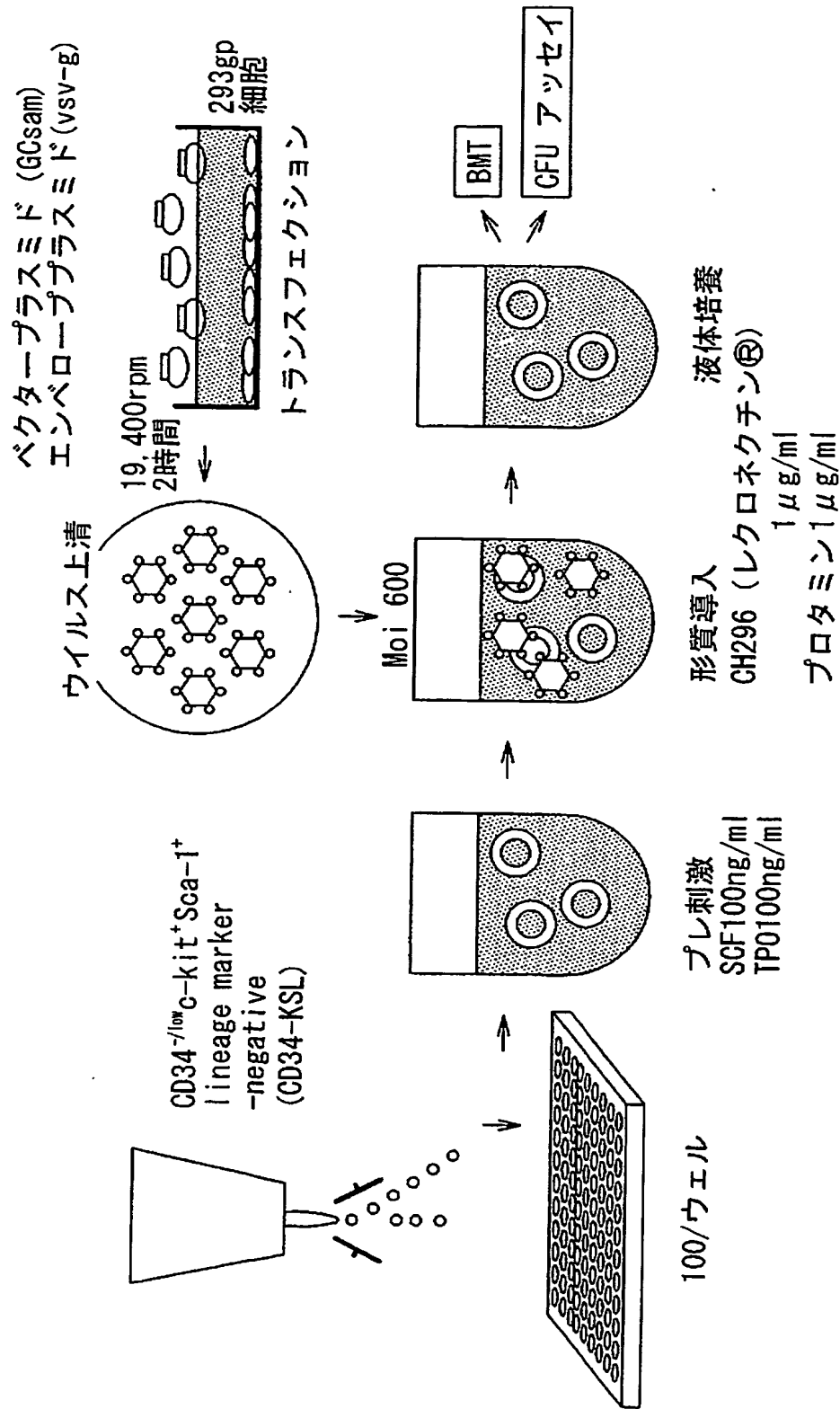
STAT5 1*6



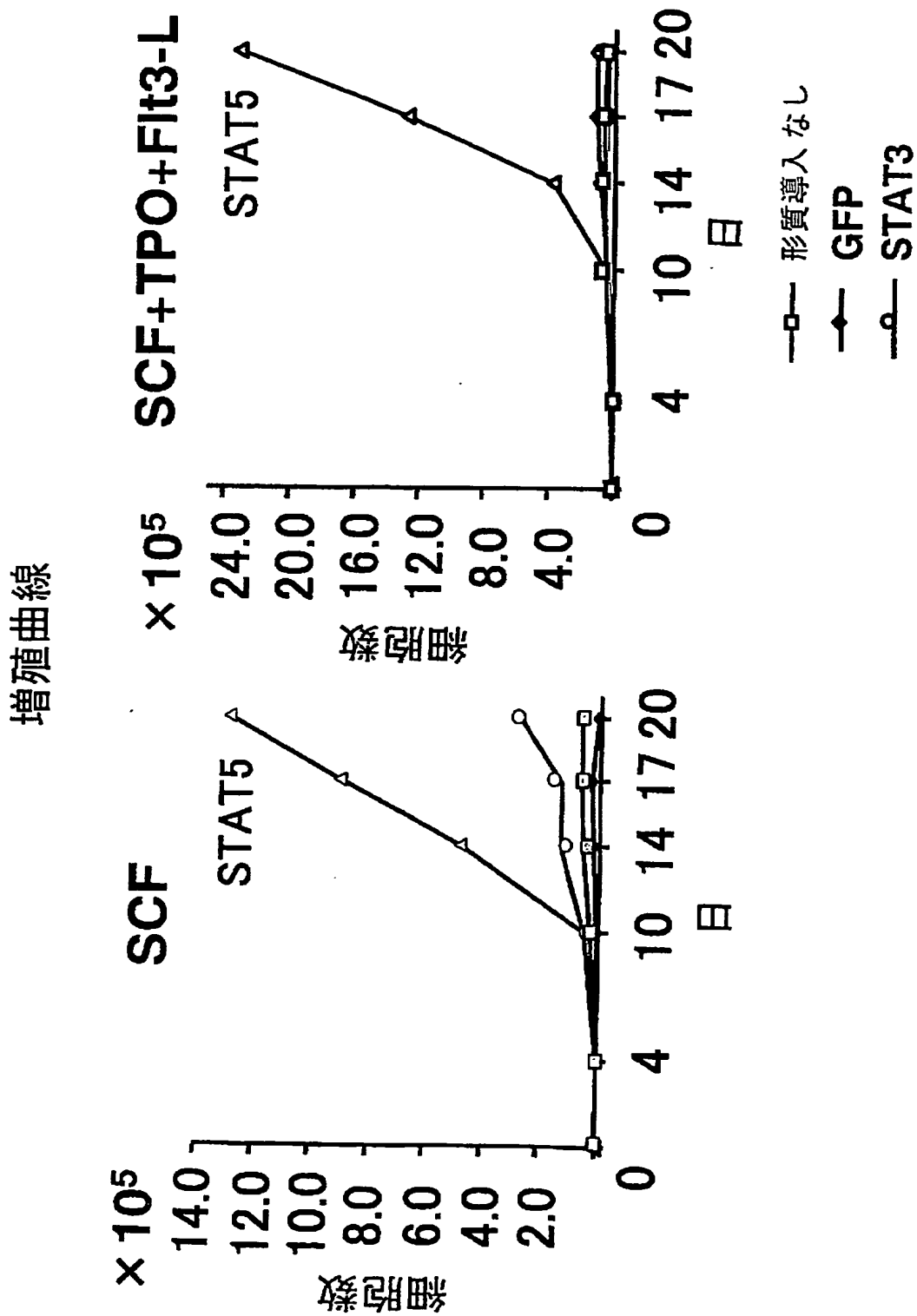
H $\xrightarrow{\quad}$ R298
S $\xrightarrow{\quad}$ F710

【図3】

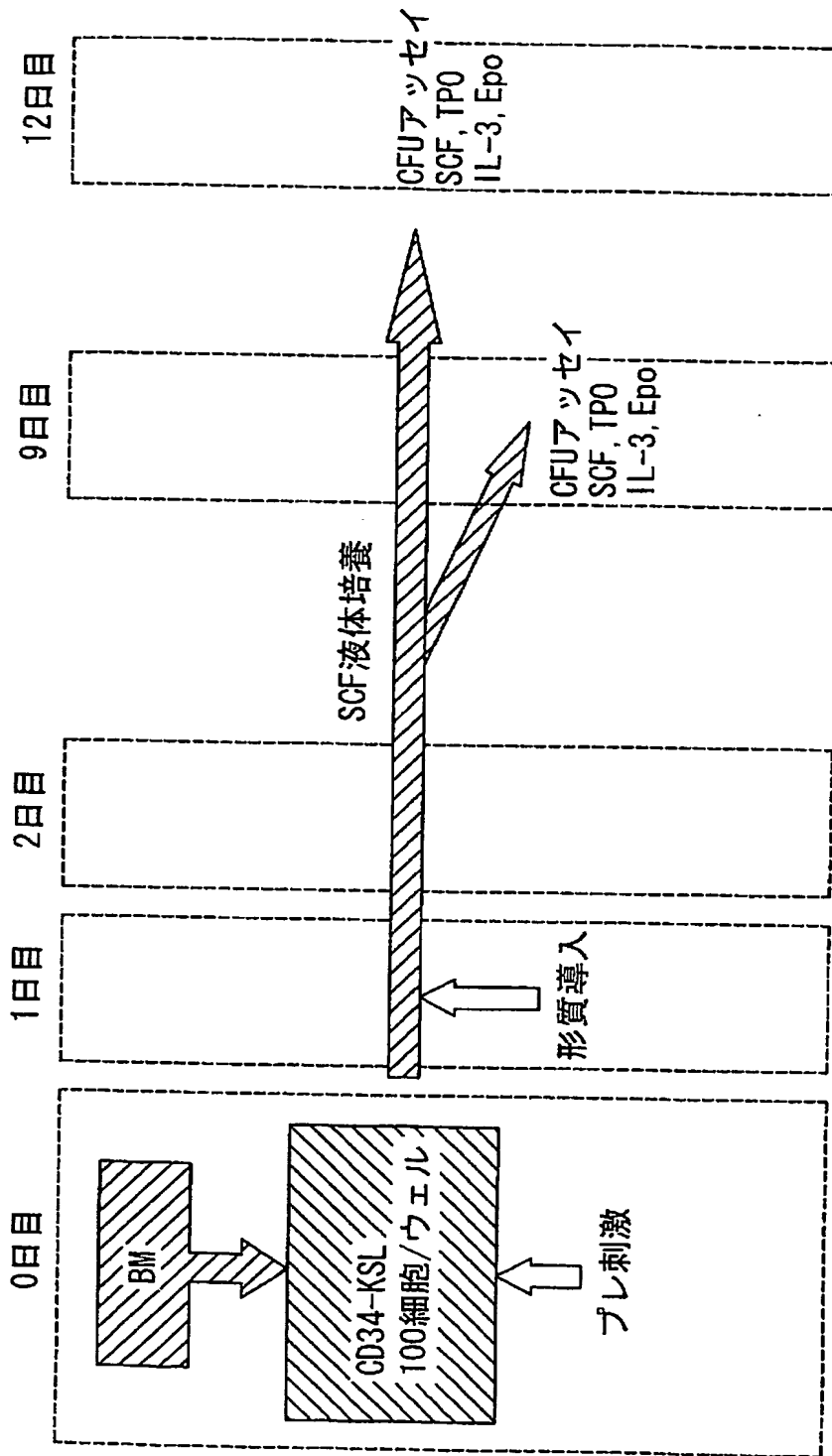
HSCのレトロウイルスによる形質導入



【図 4】



【図5】



【図6】

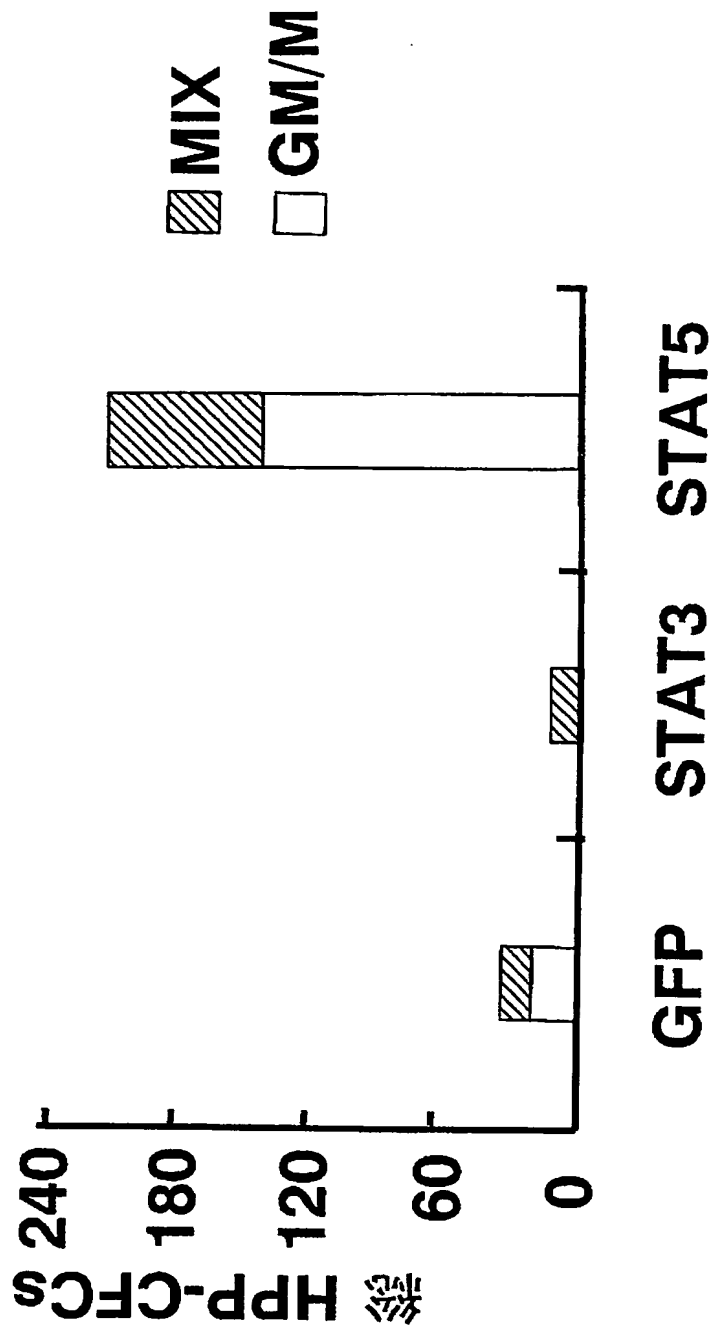
コロニーアッセイ

		CFU数値					
		9日目			12日目		
		総細胞あたり 10^3 あたり			総細胞あたり 10^3 あたり		
ウイルス		HPP	CFCs	HPP	CFCs	HPP	CFCs
GFP		36	42	36	41	48	390
STAT3		12	54	15	65	36	180
STAT5		222	378	8	14	1848	348

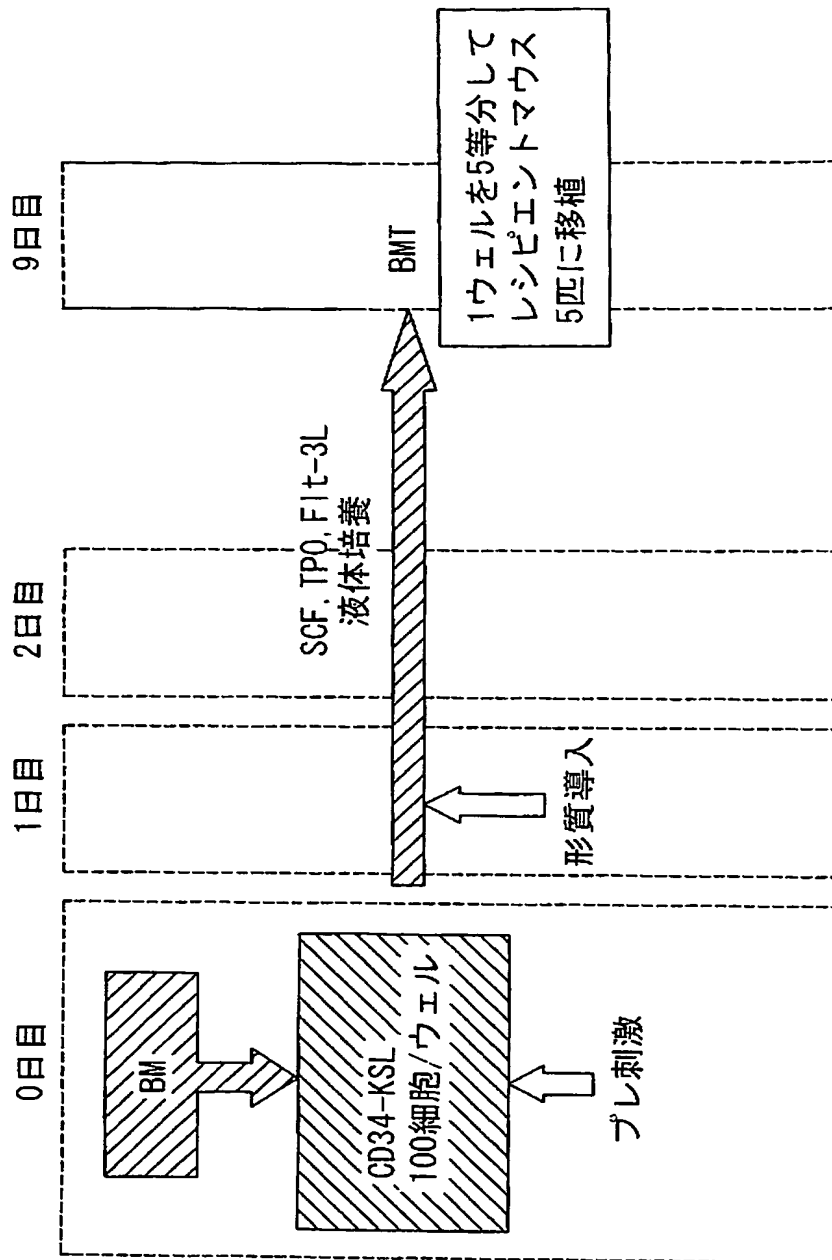
HPP: 高増殖能コロニー形成細胞
CFC: コロニー形成細胞

【図 7】

HPp-CFCs



【図8】



【図9】

活性化型STAT5で形質導入したHSCによるリンパ球および骨髄球の再建

因子	ウイルス	No. HSC	陽性 マウス	全 白血球	キメリズム%		
					骨髄細胞	Bリンパ球	Tリンパ球
SCF	GFP	20	0/5	-	-	-	-
	STAT5	20	0/5	-	-	-	-
SCF+TP0	GFP	20	0/4	-	-	-	-
+Flt-3L	STAT5	20	3/3	12.4±9.2 (n=3)	8.9±8.7 (n=3)	0.3±0.2 (n=3)	2.7±3.5 (n=3)

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】

造血幹細胞のような幹細胞を未分化のまま、多能性を維持し、かつ、自己複製能も保持させる方法および物質を提供すること。

【解決手段】 幹細胞の増幅またはその多能性の維持のための組成物であって、活性型 S T A T 5 を含む、組成物またはそれを利用する方法。S T A T 5 はタンパク質形態であっても核酸形態であってもよい。この組成物は、細胞生理活性物質（例えば、S C F、T P O および F l t - 3 L など）を含んでいてもよい。本発明は、上記幹細胞から調製された細胞、組織および臓器にも関する。

【選択図】 なし

【書類名】 出願人名義変更届
【整理番号】 J102519517
【提出日】 平成15年 9月18日
【あて先】 特許庁長官殿
【事件の表示】
 【出願番号】 特願2002-326190
【承継人】
 【住所又は居所】 東京都千代田区内幸町 1-1-1 帝国ホテルタワー 6階
 【氏名又は名称】 株式会社リプロセル
【承継人代理人】
 【識別番号】 100078282
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 山本 秀策
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 001878
 【納付金額】 4,200円
【提出物件の目録】
 【物件名】 委任状 1
 【援用の表示】 平成15年9月18日付で提出の包括委任状を援用する。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-326190
受付番号	50301547107
書類名	出願人名義変更届
担当官	北原 良子 2413
作成日	平成 15 年 11 月 4 日

< 認定情報・付加情報 >

【承継人】

【識別番号】	503341675
【住所又は居所】	東京都千代田区内幸町 1-1-1 帝国ホテルタ ワー 6 階
【氏名又は名称】	株式会社リプロセル
【承継人代理人】	申請人
【識別番号】	100078282
【住所又は居所】	大阪府中央区城見 1 丁目 2 番 27 号 クリスタル タワー 15 階
【氏名又は名称】	山本 秀策

特願 2002-326190

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[302044546]

1. 変更年月日 2002年 7月23日
 [変更理由] 新規登録
 住 所 東京都港区西新橋1丁目6番14号
 氏 名 株式会社トランスサイエンス

2. 変更年月日 2003年 7月16日
 [変更理由] 住所変更
 住 所 東京都千代田区内幸町1丁目1番1号 インペリアルタワー6
 階
 氏 名 株式会社トランスサイエンス

特願 2 0 0 2 - 3 2 6 1 9 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 0 3 3 4 1 6 7 5]

1. 変更年月日

2 0 0 3 年 9 月 1 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都千代田区内幸町 1 - 1 - 1 帝国ホテルタワー 6 階

氏 名

株式会社リプロセル